

616.153.455.04(043.2)

FRA

cir

T

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

**LA CIRCULACION CEREBRAL
EN LA HIPOGLUCEMIA
AGUDA EXPERIMENTAL**

TESIS DOCTORAL

ANA FRANK GARCIA

MADRID, 1990

Reg. F. M. 10.447

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral
con la censura de ~~Apto con laude~~ por unanimidad
Madrid, 29 de octubre, 1990

P. J. de los Ríos

José María

Hernández

Celler

Godofredo Diéguez Castrillo, Catedrático de Fisiología y Bernardino Gómez, Catedrático de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo "La circulación cerebral en la hipoglucemia aguda experimental" ha sido realizado por Dña. Ana Frank García bajo nuestra dirección como Tesis para optar al Grado de Doctor en Medicina y Cirugía en esta Facultad.

Para que conste, firmamos el presente en Madrid a veinticinco de julio de mil novecientos noventa.

G. Diéguez 

Este trabajo ha sido
subvencionado por el F.I.S.,
D.G.I.C.Y.T. y la U.A.M.

A mis tres hijos:
Sandra, Irene y Daniel

....Ellos transforman
 el gris
en resplandor de cielo
 mediante la dulzura
 azul
de sus miradas....

AGRADECIMIENTOS

Al principio, cuando uno toma la decisión de escribir la Tesis Doctoral intuyendo que el camino puede ser arduo y sólo se dispone de ilusión y voluntad de comenzar, uno se pregunta a quién dirigirse en busca de consejo para emprender la tarea. Probablemente ése sea un momento importante porque, del acierto de tal elección dependa, en gran medida, el éxito de la empresa. Así pues, al cabo del tiempo, ya casi a punto de concluir, justo a la hora de redactar estas líneas, uno reflexiona sobre la trascendencia que han tenido algunas personas sin las que, tal vez, nunca hubiera sido posible llegar hasta el final.

Quiero expresar aquí mi más sincero agradecimiento a todas estas personas que directa o indirectamente han contribuido a la realización de este trabajo:

Al Dr. Godofredo Diéguez, porque con sus valiosas instrucciones, sus concienzudas y minuciosas correcciones y sus sugerencias hizo posible el nacimiento, desarrollo y la cristalización de esta Tesis Doctoral.

Al Dr. Bernardino Gómez, por su constante colaboración, generosidad, disposición de ánimo, paciencia infinita y por su entrañable amistad.

A los restantes miembros del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la U.A.M., especialmente a los Dres. Angel Luis García-Villalón y Julio Valle, quienes al comenzar me instruyeron en el cuidado de los animales de experimentación; también a los Dres. Eduardo Nava, Luis Monge y Jose Luis García, por su desinteresada ayuda cuando fué preciso.

A mis queridos maestros y compañeros del Hospital quienes, además de haberme orientado en el conocimiento de la Neurología, me han alentado para seguir adelante en momentos difíciles. En este sentido quisiera destacar a tres personas: al Dr. Pablo Barreiro Tella quien me aconsejó y animó desde el principio a la realización de esta Tesis, al Dr. Exuperio Díez Tejedor por sus sugerencias y su inagotable fuente de ideas y a Jesús Muñoz -neurorradiólogo y artista- por su gentil colaboración en la elaboración de los dibujos.

Por último, no quiero dejar de agradecer al Dr. Salvador Lluch la amabilidad con la que me recibió un día -ya lejano- en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la U.A.M. y el interés con el que me acogió para iniciarme en esta andadura.

Llegado este momento puedo afirmar con alegría que no me equivoqué al elegir a quienes habrían de acompañarme en esta experiencia vital en la que he ido descubriendo paso a paso el significado del rigor del método científico aplicado a la investigación experimental en Medicina.

A todos, muchas gracias.

INDICE

	<u>Página</u>
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	14
MATERIAL Y METODOS	
- Características de la circulación cerebral en la cabra .	19
- Preparado experimental	22
- Procedimiento experimental	29
RESULTADOS	
- Efecto de la insulina sobre la glucemia	39
- Efectos de la hipoglucemia	41
- Efectos hemodinámicos de la hipoglucemia durante el tratamiento con propranolol	52
- Actividad alfa y beta adrenérgica cerebrovascular durante la hipoglucemia	56
- Respuesta vascular cerebral durante la hipoglucemia	58
DISCUSION	75
RESUMEN Y CONCLUSIONES	96
BIBLIOGRAFIA	100

INTRODUCCION

En la práctica hospitalaria asistimos con cierta frecuencia a pacientes que presentan hipoglucemia aguda y un elevado número de ellos presentan síntomas neurológicos cuya gravedad varía de unos a otros.

El descubrimiento de la insulina en el año 1921 generó por primera vez el interés por estudiar los posibles efectos adversos de la hipoglucemia sobre el sistema nervioso central, así como su influencia en la circulación cerebral (51, 58). Ello se debió, al principio, al incremento de complicaciones neurológicas en pacientes diabéticos a los que se les sobredosificaba la insulina y, posteriormente, a la aparición de una nueva modalidad terapéutica que pretendía el control de ciertas enfermedades psiquiátricas (esquizofrenia) mediante la administración deliberada de altas dosis de insulina para provocar coma (20, 127, 128). A partir de los años 30 del presente siglo se documentaron detalladamente las distintas manifestaciones clínicas a las que da lugar la hipoglucemia y éstas constituyen el amplio abanico de síntomas generales, psiquiátricos y neurológicos que hoy conocemos (29, 51, 74, 104, 144, 155). A finales de la década de los 60 los trabajos se centraron en el estudio de la encefalopatía hipoglucémica y surgió la clasificación clínica de sus síntomas en: delirio, coma, crisis convulsivas y manifestaciones de apariencia ictal (122). Más recientemente se ha revisado de forma exhaustiva el espectro de estas manifestaciones en varias series de pacientes (51, 65, 102, 130) y en la actualidad la información clínica que disponemos es bastante completa.

Es sabido que los diferentes síntomas neurológicos varían en su forma de presentación y evolución dependiendo de que la instauración de la hipoglucemia ocurra de un modo agudo o crónico. En el primer caso éstos consisten inicialmente en temblores generalizados, ansiedad, sudoración profusa, palpitaciones, mareo, náuseas y vómitos y sensación de hambre y de debilidad (51, 102), atribuyéndose todos ellos a la hiperactividad adrenérgica. Posteriormente dan paso a manifestaciones de disfunción cerebral que, en un primer estadio, suelen consistir en trastornos de conducta, irritabilidad y otros síntomas psiquiátricos y, ulteriormente, afectan al nivel de conciencia produciendo letargia, obnubilación e, incluso, estupor, coma, descerebración (130), crisis convulsivas (51, 64, 102, 113) y déficits neurológicos focales de apariencia ictal (29, 51, 67, 102, 104, 106, 137, 144, 147). La mayoría de estos síntomas son reversibles si se corrige a tiempo la hipoglucemia mediante la administración de glucosa por vía oral o intravenosa, aunque existen descripciones de persistencia de secuelas importantes como estados vegetativos similares a los que ocurren en hipoxia-isquemia o, incluso, la muerte (7, 51, 102). En la hipoglucemia crónica no parecen ocurrir síntomas relacionados con la hiperactividad adrenérgica y las alteraciones tienden a ser irreversibles; pues el trastorno neurológico que las caracteriza suele consistir en manifestaciones de demencia o ataxia irreversibles y de curso progresivo (51).

Toda esta constelación de síntomas se produce con independencia de la causa desencadenante de la hipoglucemia. Se conocen múltiples factores etiológicos y, en clínica, el más frecuente es la sobredosis de

insulina o de agentes hipoglucemiantes orales en enfermos diabéticos; también puede ser secundaria a ingesta etílica aguda (tanto en personas previamente sanas como en diabéticas), ayuno prolongado, sepsis, gastroenteritis agudas, mixedema, tumores pancreáticos o de otras localizaciones secretoras de insulina, insuficiencia hepática, embarazo, marasmo, sarcoma retroperitoneal y sobredosis accidental o provocada de insulina por vía intravenosa (30, 33, 67, 102, 132, 144). No se ha hallado ninguna correlación entre la causa responsable de la hipoglucemia y los síntomas resultantes ni se ha podido demostrar que el grado de aquella guarde una relación estrecha con la severidad del cuadro clínico ni con su pronóstico, si bien habitualmente las hipoglucemias más severas se detectan en los pacientes en coma profundo y las menos acusadas en los pacientes que únicamente presentan síntomas de hiperactividad adrenérgica (102). En general, en clínica se considera que existe hipoglucemia cuando la concentración plasmática de glucosa es inferior a 60 mg/dl (144).

Independientemente de la etiología de la hipoglucemia, el sistema nervioso central parece ser el órgano diana sobre el cual ésta ejerce su acción deletérea puesto que en condiciones normales los requerimientos energéticos del mismo se obtienen fundamentalmente a través del metabolismo oxidativo de la glucosa (49, 51). En el sistema nervioso central las reservas de glucosa y de glucógeno son prácticamente nulas, por lo que el aporte sanguíneo de la primera constituye, en definitiva, su principal fuente de substrato energético (114). Estas circunstancias explican que el cerebro sea un órgano extremadamente sensible a las

variaciones de la concentración plasmática de glucosa y le hacen particularmente vulnerable a la hipoglucemia y también a la rapidez con la que ésta se instaura (51). La respuesta del sistema nervioso central al descenso de la glucemia pone en marcha una compleja reacción neuro-endocrina que se inicia por la activación de receptores sensibles al nivel de glucosa en el sistema nervioso central. Esto desencadena la liberación de hormonas y neurotransmisores que van a actuar aumentando la producción hepática de glucosa para así poder mantener el aporte de glucosa al cerebro (80). Se ha demostrado que cuando se interrumpe completamente este aporte de un modo brusco, la función del sistema nervioso central se deteriora rápidamente y se produce un daño irreversible puesto que los mecanismos productores de glucosa en el organismo son más lentos que lo que tarda en producirse la lesión cerebral (51).

Los mecanismos exactos por los que se produce el daño neuronal durante la hipoglucemia no se conocen bien. Inicialmente se consideraba que la fisiopatología de la lesión cerebral producida por la hipoglucemia era similar a la de la isquemia (125) y algunos autores sugerían que podría deberse a la interrupción de la formación de fosfatos de alta energía (61, 92, 93). En la actualidad, en base a estudios morfológicos y metabólicos, se sabe que los efectos de la hipoglucemia sobre el tejido cerebral son claramente distintos a los de la isquemia (19, 83, 84). Así, desde el punto de vista estructural la hipoglucemia determina necrosis neuronal cortical y la topografía de las zonas con mayor predisposición a sufrir los daños comprenden a las regiones cerebrales vecinas a los espacios bañados por

el líquido cefalorraquídeo (18). Diversas observaciones sugieren la existencia de una lesión rostro-caudal del sistema nervioso central (3, 51, 81). Esto explicaría las manifestaciones clínicas y reflejaría la preferencia de la localización de las lesiones (51). Algunos trabajos señalan que las neuronas o grupos neuronales especialmente vulnerables a la hipoglucemia aguda son las que tienen una mayor actividad colinérgica (68). Desde el punto de vista metabólico se ha demostrado que la hipoglucemia, a diferencia de la isquemia, no produce acidosis láctica, sino que se caracteriza por oxidar los sistemas "re-dox" celulares manteniendo un pH alcalino (19, 112, 117, 118). También es conocido que en la hipoglucemia no existe paralelismo entre el consumo cerebral de glucosa (que está muy disminuído) y el de oxígeno (que está preservado) (19, 102), lo cual no ocurriría si el consumo de oxígeno dependiera de la concentración cerebral de glucosa (40, 56). Por ello se sugiere que las neuronas conservan su capacidad de producir energía (ATP) a través de la utilización de otras vías oxidativas distintas a la glucolítica (5, 19, 40, 56, 67, 112, 139), entre ellas la de los ácidos grasos, beta hidroxibutirato y fosfolípidos (6, 67). Esto conduce, probablemente, a la utilización de los propios componentes estructurales celulares con el consiguiente autocatabolismo y muerte celular. Sin embargo, estudios llevados a cabo en animales recién nacidos (82) y en neonatos humanos (13, 19, 21) sugieren que este mecanismo de autocatabolismo celular no debe ser el responsable en todos los casos puesto que, a diferencia de los adultos, los recién nacidos pueden obtener ATP a través de la oxidación del ácido láctico y no precisan de la vía glucolítica. (19, 75, 139).

Durante la fase de electroencefalograma isoelectrico en la hipoglucemia se han encontrado importantes cambios en el metabolismo iónico y energético en el cerebro (92, 150). Entre estos cambios destaca el aumento de ácido aspártico, cuya concentración en el tejido cerebral en la fase de electroencefalograma plano se encuentra aumentada hasta 15 veces más de lo normal (19, 71, 129), así como la de otros neurotransmisores (ácido glutámico, ácido gamma-aminobutírico, ácido araquidónico, taurina, fosfoetanolamina) (4, 27, 57, 94, 129, 149, 151, 152). Estas sustancias podrían actuar como excitotoxinas y ser las responsables de la destrucción neuronal en la hipoglucemia mediante su paso al líquido cefalorraquídeo y captación por las dendritas situadas en regiones adyacentes a los espacios subaracnoideo y cisternales (19, 144).

Junto a los mecanismos estrictamente metabólicos pueden coexistir factores hemodinámicos que desempeñen un papel importante o contribuyan a la producción de las alteraciones neurológicas durante la hipoglucemia (2, 26, 111, 112). Sin embargo, los estudios dirigidos al conocimiento de la hemodinámica cerebral en la hipoglucemia son todavía escasos. El interés por el estudio de la hemodinámica cerebral en la hipoglucemia se despertó en la década de los 40 cuando comenzó a plantearse que los factores hemodinámicos podrían ser, en parte, responsables de los síntomas neurológicos que aparecen durante la hipoglucemia (103, 106, 123). La ausencia de anomalías estructurales en el árbol vascular cerebral de estos pacientes (51, 125) sugiere que de existir factores hemodinámicos, éstos deben ser funcionales.

Los primeros estudios efectuados en pacientes en coma hipoglucémico muestran que el flujo sanguíneo cerebral no varía (56, 86, 87) o está ligeramente aumentado (40). En otro estudio más reciente, en el que el flujo sanguíneo cerebral se mide mediante la técnica de aclaramiento de xenon en pacientes sanos y en diabéticos sometidos a hipoglucemia sin llegar a producir coma, se demuestra que el flujo sanguíneo cerebral experimenta un claro incremento en todos los pacientes, sanos y diabéticos (107). Hilsted et al. (1984) estudian los cambios hemodinámicos sistémicos, pero no cerebrales, en siete voluntarios sanos sometidos a hipoglucemia aguda mediante insulina a dosis de 0.5 UI/Kg de peso y llegan a la conclusión de que se produce un descenso transitorio del volumen plasmático y un incremento del gasto cardíaco secundario al aumento de la frecuencia y contractilidad cardíacas; estos fenómenos podrían condicionar riesgos cardiovasculares durante la hipoglucemia, especialmente en pacientes con cardiopatías y en ancianos (78).

Los trabajos experimentales dirigidos al estudio de los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral se han llevado a cabo en diferentes especies animales utilizando diferentes métodos para medir el flujo sanguíneo cerebral (2, 26, 34, 66, 67, 76, 79, 111, 134). Los resultados de estos estudios son contradictorios y difícilmente comparables entre sí. Así, unos afirman que durante la hipoglucemia no se altera el flujo sanguíneo cerebral, incluso en la situación de coma (34, 66, 67, 76, 134, 136), mientras que otros señalan que el flujo sanguíneo cerebral experimenta un incremento previo a y durante la instauración del

coma hipoglucémico (2, 26, 79, 111, 112). La discordancia está relacionada probablemente con la diferencia de especies utilizadas, el uso de anestesia y con los diferentes métodos que se han empleado para medir el flujo sanguíneo cerebral.

Si los estudios hemodinámicos son escasos, aún lo son más los estudios sobre la capacidad funcional cerebrovascular en la hipoglucemia. Estos estudios se limitan al análisis de la capacidad de respuesta al CO₂ y a la respuesta cerebrovascular durante la hipotensión arterial. Varios trabajos indican que la respuesta cerebrovascular vasodilatadora inducida por la hipercapnia no se modifica durante la hipoglucemia (37, 111, 134), pero sí está alterada en la fase de recuperación post-hipoglucémica tras la administración de glucosa (111). Por su parte, la hipocapnia durante la hipoglucemia no produce disminución del flujo sanguíneo cerebral, a diferencia de lo que ocurre en normoglucemia (134). Con respecto a la hipotensión arterial los trabajos describen que, cuando ésta es incluso moderada, se reduce el flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia severa (119), pudiendo añadir un gran perjuicio a la circulación cerebral (136). No obstante, en estudios morfológicos no se encuentra incremento de necrosis neuronales en animales hipoglucémicos e hipotensos (19, 20).

Hollinger y Bryan (1987) analizaron el posible papel de los receptores beta adrenérgicos vasculares cerebrales en los cambios hemodinámicos cerebrales durante la hipoglucemia, llegando a la conclusión de que la hipoglucemia produce una vasodilatación del lecho vascular cerebral mediante activación beta adrenérgica cerebrovascular (79).

Se ha demostrado que en la hipoglucemia están incrementadas la actividad simpática y las concentraciones plasmáticas de múltiples hormonas y neurotransmisores (glucagón, cortisol, hormona del crecimiento, ACTH, oxitocina, vasopresina, prolactina, adrenalina y noradrenalina) (26, 36, 62, 63). Esto abre la posibilidad de que la actividad adrenérgica y factores humorales intervengan en las posibles alteraciones de la hemodinámica cerebral durante la hipoglucemia. Está aceptado ampliamente que los vasos sanguíneos cerebrales humanos y de diferentes especies reciben una rica inervación adrenérgica (31, 32, 59, 60, 108, 109, 110, 120, 140). Asimismo, se ha demostrado que existe actividad adrenérgica alfa y beta en la circulación cerebral (53, 69, 97), que la actividad simpática participa activamente en la regulación de la circulación cerebral (8, 10, 38, 70, 77) y que los vasos sanguíneos cerebrales in vivo e in vitro poseen receptores alfa y beta adrenérgicos (35, 95, 96, 110, 126, 133, 140, 141), colinérgicos (9, 41, 73, 121), para la vasopresina (90, 98, 115), oxitocina (90) y otras sustancias vasoactivas tales como serotonina (5-HT) (11, 44, 54, 55, 141) y angiotensina (42, 48, 131, 148). Asimismo, es conocido que el anhídrido carbónico es un poderoso vasodilatador cerebral en seres humanos (1, 88, 138) y en diferentes especies animales (72, 85, 153). Por tanto, la circulación cerebral, como la de otros tejidos del organismo, es sensible a factores nerviosos y humorales. Esto, junto con el hecho de que la hipoglucemia se acompaña de aumento de la actividad adrenérgica y de liberación de hormonas, sugiere que estos factores pueden participar en los cambios del flujo sanguíneo cerebral secundarios a la disminución de glucosa en sangre. En este sentido, uno de los

aspectos que más pueden contribuir al conocimiento de la fisiopatología de estas posibles alteraciones hemodinámicas es el estudio de la capacidad de respuesta de los vasos sanguíneos cerebrales durante la hipoglucemia. Este aspecto ha sido especialmente muy poco estudiado.

En resumen, aún permanecen sin aclarar los mecanismos por los que la hipoglucemia produce el daño cerebral y su estudio sigue siendo de interés y representa un reto clínico y experimental. A este respecto, los trabajos de investigación muestran actualmente una doble vertiente:

a) estudios ultraestructurales y neuroquímicos que pretenden averiguar qué sustancias, que al estar incrementadas en la hipoglucemia, serían capaces de producir el daño neuronal y a través de qué mecanismos se produce este daño, y

b) estudios sobre la circulación cerebral con objeto de conocer su comportamiento durante la hipoglucemia para determinar si se producen trastornos en la regulación vascular cerebral como causa de la lesión del tejido nervioso.

Una de las causas del porqué no se conocen bien las alteraciones cerebrovasculares que se producen durante la hipoglucemia y su fisiopatología es la falta de un modelo experimental adecuado que reproduzca la situación clínica y permita conocer momento a momento los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral. La mayoría de los estudios se han realizado en animales anestesiados y los métodos utilizados para medir el flujo sanguíneo cerebral sólo proporcionan datos parciales. Estas condiciones experimentales (anestesia, ventilación

artificial) se apartan notablemente de la situación clínica y, probablemente, los resultados obtenidos son diferentes de los que ocurren en condiciones naturales y en la clínica humana. La anestesia es un serio inconveniente puesto que altera la respuesta vegetativa (presión arterial, frecuencia cardíaca, etc.) ante cualquier insulto al organismo así como la respuesta vascular (143). Por otro lado, las especies animales utilizadas para estudiar los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral ofrecen dos circunstancias que dificultan la medición del flujo sanguíneo cerebral: 1) la existencia de un aporte sanguíneo múltiple al cerebro (arterias carótidas y vertebrales) y 2) la dificultad para separar la circulación craneal extracerebral de la propiamente cerebral. Estas dos circunstancias hacen que la medición selectiva del flujo sanguíneo cerebral sea difícil de obtener y, por tanto, los resultados pueden ser confusos.

En nuestro trabajo utilizamos un modelo experimental en la cabra sin anestesiarse que obvia algunos de los inconvenientes citados anteriormente y ofrece las siguientes ventajas: a.) permite medir el flujo sanguíneo cerebral de forma continua, latido a latido, en el animal despierto y en condiciones próximas a las naturales. Este modelo ha sido utilizado ampliamente en nuestro laboratorio para el estudio de la circulación cerebral en condiciones normales y patológicas (8, 43, 44, 70, 72, 96, 98, 100, 101) y los vasos sanguíneos cerebrales de la cabra tienen un comportamiento funcional comparable a los de los humanos (48, 98) y b.) la hipoglucemia se realiza igualmente en el animal despierto midiendo simultáneamente el flujo sanguíneo cerebral, presión arterial sistémica,

frecuencia cardíaca y el volumen/minuto cardíaco. Por tanto, este modelo permite registrar de forma continua los efectos hemodinámicos de la hipoglucemia moderada y severa en el animal sin anestésiar. El desarrollo de este modelo experimental de hipoglucemia constituirá el primer objetivo del presente trabajo.

Otro de los objetivos será analizar la capacidad funcional cerebrovascular durante la hipoglucemia. Para ello utilizaremos estímulos y situaciones cuyos efectos sobre la circulación cerebral son bien conocidos y que pueden ser de interés para estudiar la fisiopatología de las alteraciones cerebrovasculares producidas por la hipoglucemia. Analizaremos la actividad alfa y beta adrenérgica y también el papel de los receptores beta adrenérgicos de los vasos cerebrales en los efectos de la hipoglucemia en la circulación cerebral. En nuestro trabajo estudiaremos además los efectos de la hipercapnia sobre la hemodinámica cerebral en los animales durante la hipoglucemia, así como los de otras sustancias con conocida acción vasodilatadora y vasoconstrictora en la circulación cerebral.

La presencia de actividad alfa y beta adrenérgica y los efectos de los estímulos y maniobras experimentales utilizadas en este trabajo ya han sido estudiados y caracterizados en la circulación cerebral de la cabra sin anestésiar (8, 43, 44, 45, 46, 69, 70, 72, 96, 100, 101).

OBJETIVOS

Son varias las razones que nos han llevado a la realización de este trabajo. Entre ellas están las siguientes:

a) la relativa frecuencia de pacientes con manifestaciones neurológicas secundarias a la hipoglucemia aguda; b) la experiencia de asistir en la práctica clínica hospitalaria a pacientes que presentan tales síntomas; c) el escaso conocimiento que existe de los efectos que produce esta entidad sobre la hemodinámica cerebral; d) la atracción que sentimos por el estudio de la fisiopatología de la circulación cerebral y e) la fortuna de mantener desde hace años vínculos estrechos entre el Servicio de Neurología del Hospital "La Paz" y el Departamento de Fisiología de esta Facultad de Medicina.

El **objetivo** del presente estudio es doble:

1) estudiar los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral , y

2.) estudiar los efectos de la hipoglucemia sobre la capacidad funcional de los vasos sanguíneos cerebrales.

Para ello se utiliza un modelo experimental que permite medir el flujo sanguíneo cerebral de forma continua, latido a latido, en la cabra sin anestesiarse. Este modelo ofrece además la ventaja de analizar la respuesta vascular cerebral de forma selectiva mediante la inyección de sustancias vasoactivas directamente en el lecho vascular cerebral en dosis relativamente pequeñas. La hipoglucemia se induce mediante la inyección intravenosa de insulina y durante sus efectos es posible observar alteraciones clínicas y de la hemodinámica cerebral y sistémica en

condiciones que remedan, en cierto modo, las que tienen lugar en la clínica.

Para estudiar el primer objetivo se registrarán el flujo sanguíneo de un hemisferio cerebral, la presión arterial sistémica y la frecuencia cardíaca antes y después de inyectar la insulina por vía intravenosa. Se medirán también periódicamente la glucemia así como la pO_2 , pCO_2 y pH sanguíneos durante la normoglucemia e hipoglucemia.

Para analizar el segundo objetivo se llevarán a cabo tres tipos de experimentos: a) registro de los efectos de la fentolamina (bloqueante alfa adrenérgico) y del propranolol (bloqueante beta adrenérgico) sobre el flujo sanguíneo cerebral en normoglucemia e hipoglucemia. Esto permitirá analizar los efectos de la hipoglucemia sobre la actividad adrenérgica alfa y beta en la circulación cerebral; b) se investigará el posible papel de los receptores beta adrenérgicos en los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral. Para ello los animales serán tratados con propranolol durante la inducción de la hipoglucemia y los resultados serán comparados con los obtenidos sin tratamiento, y c) se registrarán los efectos de sustancias vasoconstrictoras (noradrenalina, tiramina y serotonina) y vasodilatadoras (acetilcolina, isoproterenol, diazóxido y anhídrido carbónico) sobre el flujo sanguíneo cerebral en normoglucemia e hipoglucemia. Este tipo de experimentos nos permitirá determinar los efectos de la hipoglucemia sobre la capacidad de respuesta vascular cerebral. El efecto de estos estímulos vasoactivos en la circulación cerebral en condiciones normales ha sido ya estudiado previamente en éste y en otros modelos experimentales y está bien caracterizado.

Con este trabajo se pretende contribuir al conocimiento de las alteraciones cerebrovasculares producidas por la hipoglucemia y de su

fisiopatología. Esto permitirá aplicar medidas preventivas y terapéuticas más racionales y eficaces en los pacientes que padezcan estas anomalías.

MATERIAL Y METODOS

CARACTERISTICAS DE LA CIRCULACION CEREBRAL EN LA CABRA

El animal de elección para llevar a cabo el presente estudio fué la cabra debido a la especial disposición anatómica de su árbol vascular cerebral. En esta especie, el aporte sanguíneo al cerebro es diferente al que ocurre en la especie humana (Figura 1) y permite, después de efectuar el preparado experimental, medir selectivamente el flujo sanguíneo que llega a un hemisferio cerebral en el animal despierto (105, 124).

En la cabra cada arteria maxilar interna, rama de la arteria carótida externa, proporciona todo el flujo sanguíneo al hemisferio cerebral homolateral a través de la "rete miráble". Las arterias vertebrales no contribuyen al aporte sanguíneo cerebral puesto que no hay comunicación funcional entre estas arterias y la arteria basilar. De la arteria maxilar interna nacen el ramo anastomótico y la arteria anastomótica que llevan sangre a la "rete miráble" (14, 39). Esta estructura vascular, que está situada dentro del cráneo en el interior del seno cavernoso y a ambos lados de la hipófisis, está formada por una red compacta de pequeñas arterias anastomosadas entre sí (15, 45, 46, 47, 99). De la "rete miráble" de cada lado nace la arteria carótida interna, que es de trayecto corto y completamente intracraneal, para formar el polígono de Willis. En la cabra el polígono de Willis es semejante al humano, excepto que la sangre en la arteria basilar fluye en dirección caudal. La arteria maxilar interna, distalmente a la arteria anastomótica, se continúa con las arterias

oftálmica, etmoidal y bucinadora que llevan sangre a estructuras extracerebrales (Figura 1). Esta distribución vascular de la cabeza de la cabra ha sido confirmada mediante el modelado del árbol vascular cerebral con un polímero acrílico (124).

Aunque la "rete miráble" permite una amplia comunicación potencial entre la circulación sanguínea de los dos hemisferios cerebrales al no existir entre ambos lados un gradiente de presión en condiciones normales, la sangre que llega a cada lado no pasa al lado contralateral a través de la "rete" ni del polígono de Willis como ha sido comprobado en estudios realizados mediante scintigrafía (124).

Cuando se ocluyen las ramas extracraneales de la arteria maxilar interna (dental, oftálmica, bucinadora y etmoidal), el flujo que pasa por la arteria maxilar interna es precisamente el que llega al hemisferio cerebral homolateral. Por tanto, colocando un transductor electromagnético de flujo en esta arteria después de excluir sus ramas extracraneales se puede medir selectivamente el flujo sanguíneo del hemisferio cerebral homolateral.

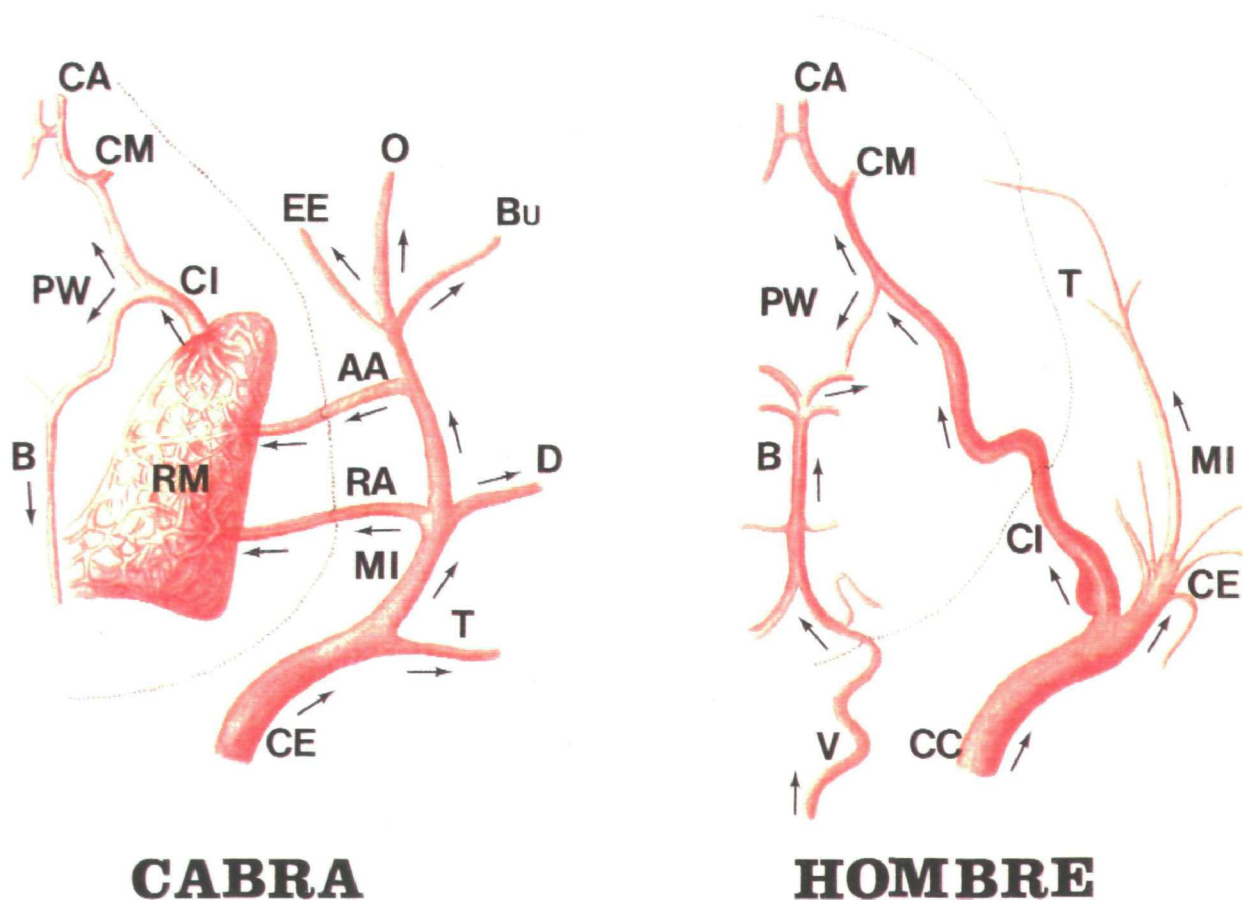


FIGURA 1.

Esquema del árbol vascular cerebral extra e intracraneal de cabra y humano mostrando su diferente disposición anatómica. Las diferencias más importantes entre ambos consisten en que en la cabra existe la "rete miráble", el aporte de sangre cerebral se hace totalmente a través de la arteria carótida externa sin participación de las arterias vertebrales y la arteria carótida interna tiene un trayecto totalmente intracraneal.

Las flechas indican la dirección del flujo sanguíneo arterial; la línea de puntos representa el cráneo.

AA: arteria anastomótica; **B:** arteria basilar; **Bu:** arteria bucinadora; **CA:** arteria cerebral anterior; **CC:** arteria carótida común; **CE:** arteria carótida externa; **CI:** arteria carótida interna; **CM:** arteria cerebral media; **D:** arteria dental; **EE:** arteria etmoidal externa; **MI:** arteria maxilar interna; **O:** arteria oftálmica; **PW:** polígono de Willis; **RA:** ramo anastomótico; **RM:** Rete miráble; **T:** arteria temporal; **V:** arteria vertebral.

(Adaptado de REIMANN et al., 1972)

PREPARADO EXPERIMENTAL

A.- MEDICION DEL FLUJO SANGUINEO CEREBRAL

En este trabajo se han utilizado 15 cabras adultas de 27-50 Kg de peso. En cada una de ellas se realizó la intervención quirúrgica para la implantación de un transductor electromagnético de flujo en la arteria maxilar interna y la exclusión del aporte sanguíneo extracraneal de esta arteria siguiendo el modelo descrito por Reimann et al. (1972) (124).

La intervención quirúrgica se realizó en condiciones estériles y los animales se mantenían en ayunas durante 24-48 horas antes a la intervención. En estas condiciones las cabras eran anestesiadas con clorhidrato de ketamina (Ketolar[®], Parke Davis) y una solución de pentotal (Thiopental sódico) al 2% a dosis de 0,5-1,5 gr. administrados por vía intravenosa. La inducción de la anestesia se iniciaba con la inyección intramuscular de clorhidrato de ketamina (10 mg/Kg de peso) y posteriormente se colocaba un catéter intravenoso utilizado para inyecciones complementarias de pentotal. Con la primera dosis de este último fármaco se conseguía una relajación del animal suficiente para llevar a cabo la intubación endotraqueal y gástrica. La respiración era mantenida con aire ambiental por medio de un respirador tipo Harvard (modelo 607, Harvard Apparatus Company, Inc., Mass, U.S.A.).

En el animal anestesiado y preparado el campo quirúrgico se practicaba una incisión cutánea a lo largo del ramo mandibular izquierdo. Con disección roma se separaban el músculo masetero y la parótida,

respetando la integridad de ambas estructuras anatómicas así como la del nervio facial. Posteriormente se practicaba una ablación parcial del ramo mandibular para exponer la arteria maxilar interna y la arteria dental y se ligaba la arteria maxilar interna inmediatamente distal al origen del ramo anastomótico. Esta ligadura de la arteria maxilar interna no elimina totalmente el flujo sanguíneo extracerebral puesto que el ramo anastomótico puede nutrir las arterias oftálmica, etmoidal y bucinadora del mismo lado por vía retrógrada a través de la arteria anastomótica. Como estos vasos por su localización anatómica no pueden ser expuestos quirúrgicamente, su exclusión se llevaba a cabo inyectando 1000-2000 U. NIH de trombina (Thrombin, Topical[®], Parke Davis and Co., Detroit, Michigan, U.S.A.) disueltas en 1 ml. de solución salina fisiológica en la arteria maxilar interna distalmente a la ligadura de esta arteria. Esta maniobra produce trombosis inmediata de las arterias oftálmica, etmoidal y bucinadora y, como consecuencia de ello, se elimina el flujo sanguíneo del ojo y otras estructuras faciales homolaterales. También se ligaba la arteria dental, rama de la arteria maxilar interna. Con las ligaduras y trombosis realizadas queda eliminado casi totalmente el flujo sanguíneo extracerebral de la arteria maxilar interna y en estas condiciones el flujo que pasa por esta arteria corresponde aproximadamente al 95% del que llega al hemisferio cerebral homolateral (Figura 2). El éxito de la trombosis de la arteria oftálmica se confirma durante la intervención quirúrgica por la aparición de vasos trombosados en la esclerótica ocular y, posteriormente, en el animal despierto por la aparición de ceguera homolateral. La eliminación del flujo sanguíneo de las arterias bucinadora, etmoidal y

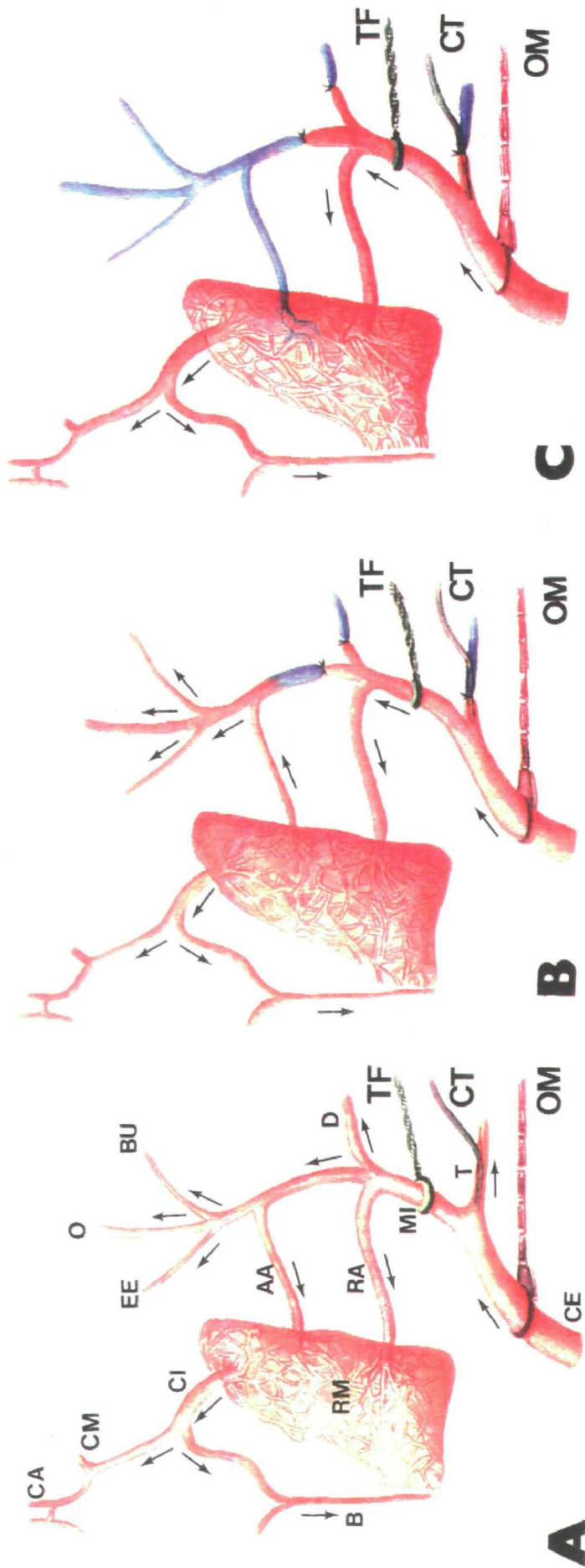


FIGURA 2.-

Representación esquemática del árbol vascular cerebral extra e intracraneal de la cabra mostrando tres etapas de la técnica para la implantación del transductor electromagnético de flujo (TF) en la arteria maxilar interna, del catéter (CT) en la arteria temporal y del ocluidor mecánico de vasos (OM) alrededor de la arteria carótida externa, así como para la exclusión de la circulación extracerebral.

A: Condiciones normales. **B:** Tras la ligadura de las arterias temporal y dental y de la arteria maxilar interna distalmente al ramo anastomótico. **C:** Igual a B, más trombosis de la arteria maxilar interna y de sus ramas extracraneales después de la inyección de trombina (1000 unidades NIH) en la arteria maxilar interna distalmente a su ligadura. Las flechas indican en cada caso la dirección del flujo sanguíneo.

Para el significado de otros símbolos, ver Figura 1. (Adaptada de REIMANN et al., 1972)

temporal no afecta a las funciones relacionadas con la masticación, deglución y rumia puesto que las áreas correspondientes se nutren de colaterales procedentes de la circulación contralateral.

Para medir el aporte sanguíneo que llega a un hemisferio cerebral se colocó un transductor electromagnético de flujo de 3 mm de diámetro (Biotronex, Silver Spring, Maryland, U.S.A.) calibrado previamente "in vivo", alrededor de la arteria maxilar interna homolateral. Asimismo, se colocó un catéter de polietileno (PE-90) en la arteria temporal, rama de la arteria carótida externa, que permite inyectar fármacos directamente en el lecho vascular cerebral, medir la presión arterial sistémica y extraer muestras de sangre arterial.

En esta intervención quirúrgica se colocó, además, un oclisor mecánico de vasos alrededor de la arteria carótida externa, proximal al transductor electromagnético de flujo. Este oclisor permite la determinación real del "flujo cero" en cualquier momento para medir exactamente el flujo de sangre que pasa por la arteria maxilar interna. La disposición en que quedan colocados el transductor de flujo, catéter y oclisor aparece representada esquemáticamente en las Figuras 2 y 3.

Las terminales del transductor electromagnético de flujo, catéter y oclisor se fijan con puntos sueltos de seda y a través de un túnel subcutáneo se sujetan a la parte posterior de los cuernos del animal mediante esparadrapo y papel adhesivo transparente. A continuación se cierra la herida operatoria por planos con puntos sueltos de catgut y la piel con seda y el transductor, oclisor y catéter quedan dispuestos para

realizar los experimentos en el animal despierto, en condiciones cardiorrespiratorias normales (Figura 3).

Al terminar la intervención quirúrgica todos los animales eran tratados con Penicilina G Benzatina (1.200.000 U.I.) por vía intramuscular para prevenir una posible infección postoperatoria.

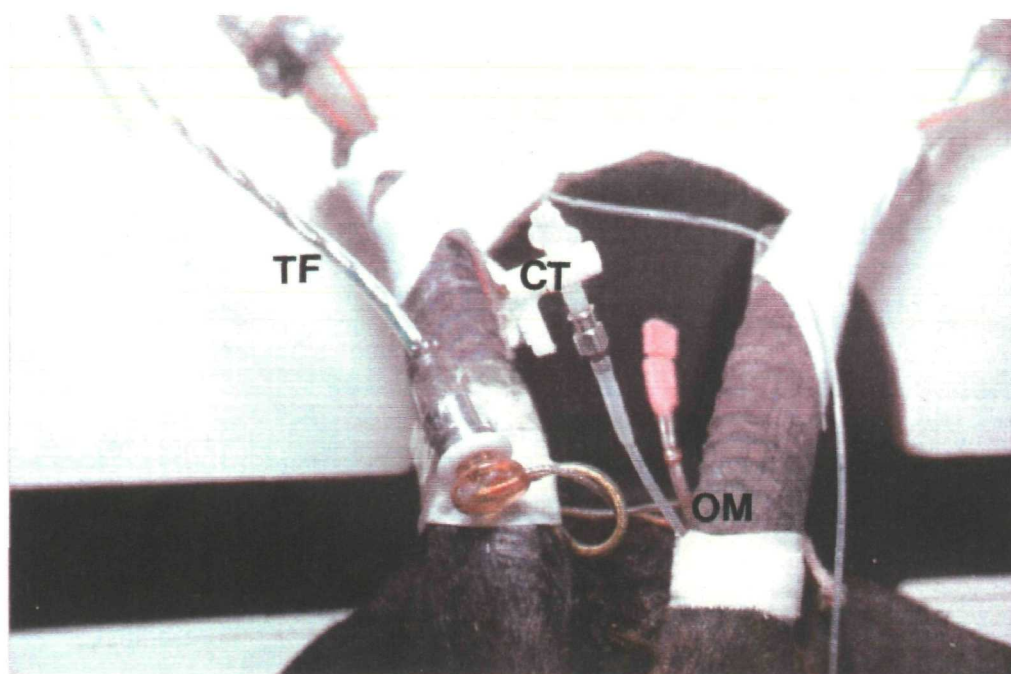
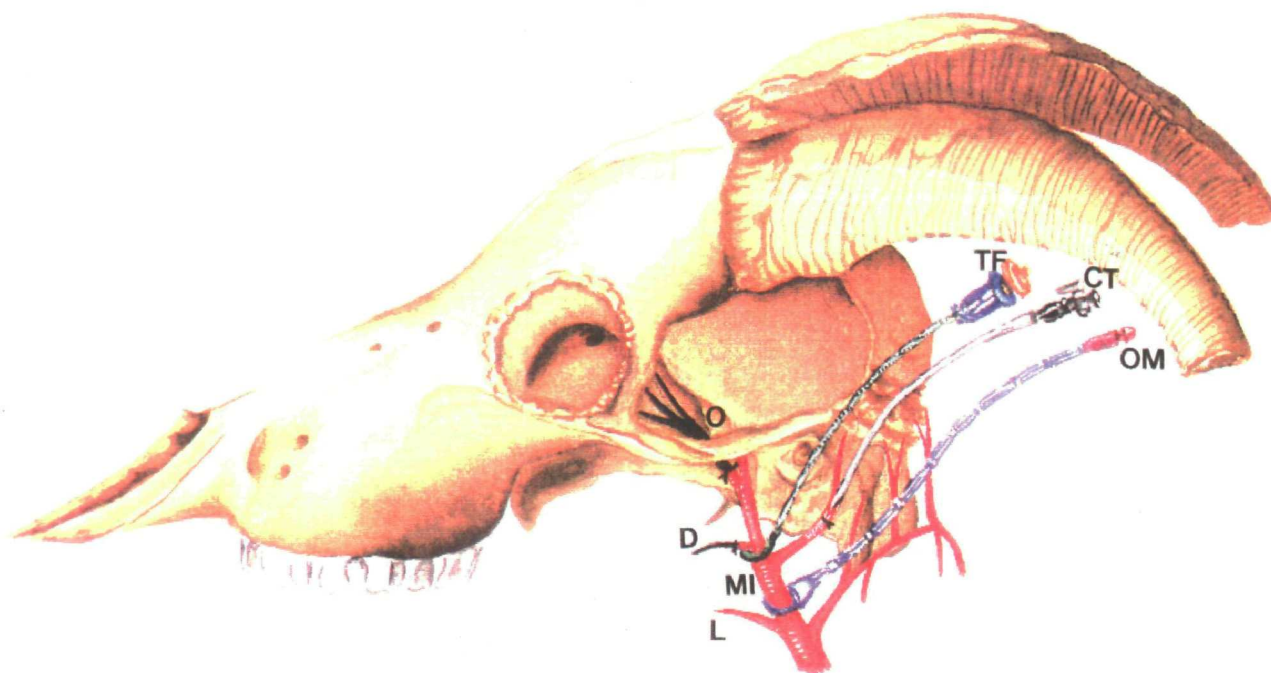


FIGURA 3.-

Esquema anatómico (arriba) y fotografía de una cabra (abajo) mostrando la disposición del transductor electromagnético de flujo (TF), catéter (CT) y ocluidor mecánico de vasos (OM) una vez concluida la intervención quirúrgica. Las arterias trombosadas (oftálmica y dental) se representan en negro.

MI: arteria maxilar interna; **D:** arteria dental; **L:** arteria lingual; **O:** arteria oftálmica.

B.- MEDICION DEL GASTO CARDIACO

El gasto cardíaco se midió en tres animales mediante la implantación de un transductor electromagnético de flujo (Biotronex, Silver Spring Maryland, U.S.A.) calibrado previamente "in vivo", alrededor de la arteria pulmonar. A un animal se le intervino exclusivamente para ello y a otros dos, a los que previamente ya se les había implantado el transductor electromagnético de flujo en la arteria maxilar interna, se les intervino quirúrgicamente por segunda vez para este propósito 4-6 días después de la primera intervención, cuando ya estaban totalmente recuperados de aquella. A los tres animales se les practicó una toracotomía en el 4º espacio intercostal izquierdo en condiciones de asepsia, bajo anestesia general y con intubación endotraqueal y gástrica. Técnicamente esta intervención quirúrgica consistía en efectuar una incisión de 15 cm. a nivel del 4º espacio intercostal izquierdo, disecando por planos la piel, el tejido celular subcutáneo y los músculos costales e intercostales separando las costillas mediante un separador costal de Finocchietto. Disecando la pleura parietal se abría el pericardio a nivel de la raíz de la arteria pulmonar, haciendo una disección roma (2-3 cm) para separar esta arteria de la aorta. A continuación se colocaba el transductor electromagnético de flujo de 14 ó 16 mm de diámetro en la raíz de la arteria pulmonar. Se cerraba el pericardio con 2-3 puntos y a continuación utilizando un retractor costal de Bailey se cerraba la herida quirúrgica por planos evitando el neumotórax. El terminal del transductor electromagnético de flujo se llevaba tunelizado subcutáneamente abriendo un ojal en la piel en la región dorsal interescapular, donde se fijaba mediante puntos de sutura.

Así, los animales quedaban en disposición para llevar a cabo los experimentos una vez recuperados de esta intervención quirúrgica.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Todos los experimentos de este trabajo se realizaron en los animales despiertos, totalmente recuperados de las intervenciones quirúrgicas y en situación cardiorespiratoria normal y estable. Como la observación y el estudio de los animales se llevó a cabo durante varios días, las cabras permanecían en establos adecuados con plena movilidad y alimentación natural. Sólo cuando se realizaban los experimentos eran transportados al laboratorio colocándolos sobre una plataforma móvil especialmente diseñada y en la que se encontraban en su posición estática natural con limitación del desplazamiento hacia adelante y hacia atrás gracias a un dispositivo de madera que se ajustaba con holgura alrededor del cuello del animal (Figura 3). En estas condiciones se registraban simultáneamente en un polígrafo Beckman E 411 el flujo sanguíneo cerebral, la presión arterial sistémica y la frecuencia cardíaca. Los valores del flujo sanguíneo cerebral (ml/min) se obtuvieron con un medidor electromagnético de flujo (Biotronex modelo BL 610) conectado al transductor electromagnético implantado en la arteria maxilar interna. La presión arterial sistémica (mm Hg) se midió conectando el catéter implantado en la arteria temporal a un transductor de presión Statham P-23 Db y la frecuencia cardíaca (latidos/minuto) se midió con un tacómetro Beckman tipo 9857 B utilizando la señal pulsátil de la presión arterial. La resistencia vascular cerebral (mm Hg/ml/min) se calculó dividiendo la

presión arterial sistémica media en mm Hg por el flujo sanguíneo cerebral en ml/min.

Para medir el gasto cardíaco (ml/min) en los 3 animales en los que se llevó a cabo, se conectaba el transductor electromagnético de flujo implantado en la arteria pulmonar con otro medidor electromagnético de flujo (Biotronex modelo BL 610) y se registraba en el mismo polígrafo simultáneamente con los otros parámetros.

Para que no se trombosara el catéter de polietileno colocado en la arteria temporal, éste se mantenía permeable inyectando diariamente a su través 1-2 ml de heparina sódica al 5% (Rovi, S.A.).

En condiciones control (dos veces con un intervalo aproximado de 10 minutos) y experimentales (varias veces) se tomaban muestras de sangre a través del catéter colocado en la arteria temporal y se medía la glucemia y el pH, pO₂ y pCO₂ sanguíneos. La glucemia se determinaba mediante el procedimiento de oxidación de la glucosa con un analizador de glucosa Glucometer (Ames) utilizando tiras reactivas apropiadas. El pH, pO₂ y pCO₂ se midieron según procedimiento standard con un analizador de gases ABL 300 (Radiometer, Copenhagen, Dinamarca).

Una vez finalizada la serie completa de experimentos en cada animal, éstos eran sacrificados mediante la administración intravenosa de una solución saturada de ClK, previa anestesia con Ketolar[®] y pentotal.

1.- INDUCCIÓN DE LA HIPOGLUCEMIA

La hipoglucemia se provocó en los animales despiertos mediante la administración de una solución neutra de insulina porcina monocomponente (Insulina Novo Actrapid MC, Novo España, S.A.) y/o de insulina porcina cristalina (Insulina Nordisk Velosulín, Abelló S.A.) a través de un catéter que se colocaba previamente en una vena safena. La primera inyección se realizaba administrando 40-80 UI de insulina durante aproximadamente un minuto directamente en el catéter colocado en la vena safena y posteriormente se inyectaban dosis adicionales de insulina de un modo similar a intervalos de 15 y 30 minutos hasta conseguir la hipoglucemia deseada. La dosis media total de insulina utilizada fue de 5.5 ± 1.5 UI / Kg de peso. Antes (20-60 min.) de la primera inyección de insulina y durante las siguientes 1-3 horas se registraban de forma continua el flujo sanguíneo cerebral, la presión arterial sistémica, la frecuencia cardíaca y el gasto cardíaco. Además, periódicamente se tomaban muestras de sangre de la arteria temporal para analizar la glucemia, el pH y los gases sanguíneos. De esta forma se tenía constancia del tiempo que tardaba en producirse la hipoglucemia así como de los cambios que ocurriesen en las variables hemodinámicas señaladas. Se consideró hipoglucemia severa cuando la glucemia era igual o inferior a 30 mg/dl y en caso necesario se administraban dosis adicionales de insulina para mantener la hipoglucemia severa durante el tiempo requerido para el experimento. Una vez finalizado éste, se restablecía la glucemia mediante la administración intravenosa de una solución estéril de glucosa al 50 % (Glucosmón[®], LEO) a dosis de 5.5 ± 0.5 gr y se

continuaban registrando las variables hemodinámicas durante 20-30 minutos.

Durante la fase de inducción de la hipoglucemia y durante todo el tiempo que ésta duraba, se observaban los animales con la finalidad de valorar las posibles alteraciones clínicas relacionadas con la hipoglucemia. Se prestaba especial atención a la capacidad de reacción frente a estímulos externos habituales del laboratorio (auditivos, visuales y táctiles), a la motilidad espontánea, mantenimiento de la posición estática natural y a la posible presentación de caídas al suelo, convulsiones o a la aparición de cualquier otra manifestación que pudiera ser expresión de algún déficit neurológico.

2.- INDUCCION DE HIPOGLUCEMIA DURANTE EL TRATAMIENTO CON PROPRANOLOL

Con la finalidad de estudiar el posible papel de los receptores beta-adrenérgicos en la respuesta vascular cerebral producida por la hipoglucemia, en 4 animales sin anestesiarse se produjo hipoglucemia durante el bloqueo de dichos receptores de los vasos sanguíneos cerebrales. La hipoglucemia se indujo como se indicó en el apartado anterior y el bloqueo de los receptores beta-adrenérgicos cerebrovasculares se llevó a cabo mediante la infusión de propranolol (4.5 ± 0.5 mg.). Esta sustancia se administraba de forma continua ó mediante bolos de 0.5-1 mg repetidos varias veces directamente en el lecho vascular cerebral a través del catéter de la arteria temporal durante la

inducción de la hipoglucemia. Las variables hemodinámicas se registraron como se indicó anteriormente.

3.- ACTIVIDAD ADRENERGICA VASCULAR CEREBRAL DURANTE LA HIPOGLUCEMIA.

Para determinar si la hipoglucemia modifica o no la actividad alfa y beta adrenérgica en los vasos cerebrales, se procedió a estudiar los efectos de los bloqueantes adrenérgicos alfa (fentolamina) y beta (propranolol) sobre la circulación cerebral en normoglucemia e hipoglucemia severa. Para ello se administraban 1-1.5 mg. de fentolamina (Regitina, Ciba), diluídos en 1 ml. de solución salina isotónica, directamente en la circulación cerebral a través del catéter de la arteria temporal. Esta dosis de fentolamina es suficiente para bloquear el tono alfa-adrenérgico de los vasos cerebrales y no altera la presión arterial ni la frecuencia cardíaca. Para analizar la actividad beta-adrenérgica se administraban directamente en la circulación cerebral 1-2 mg. de propranolol (Sumial, Ici-Farma, S.A.), diluídos en 1-2 ml. de solución salina isotónica, a través de dicho catéter. Esta dosis de propranolol es suficiente para bloquear el tono beta adrenérgico de los vasos cerebrales y no produce efectos sistémicos.

La fentolamina y el propranolol eran administrados en días diferentes y se llevaba a cabo en condiciones control y durante la hipoglucemia severa (<30 mg/dl).

4.- RESPUESTA VASCULAR CEREBRAL DURANTE LA HIPOGLUCEMIA

Durante la hipoglucemia severa (glucemia inferior a 30 mg/dl) también se analizó la capacidad de respuesta de los vasos sanguíneos cerebrales a estímulos vasoactivos cuyo mecanismo de acción está bien caracterizado. Los resultados se compararon con los obtenidos en condiciones de normoglucemia en los mismos animales.

Como estímulos vasoconstrictores se utilizaron la noradrenalina (clorhidrato de L-arterenol, Sigma, agonista alfa-adrenérgico directo), serotonina (5-hidroxitriptamina, sulfato de creatinina, Sigma, agonista triptaminérgico) y tiramina (clorhidrato de tiramina, Sigma, simpaticomimético indirecto).

Como estímulos vasodilatadores se utilizaron la acetilcolina (clorhidrato de acetilcolina, Sigma, como agonista colinérgico muscarínico), isoproterenol (clorhidrato de D-L-isopropil-arterenol, Sigma, agonista beta-adrenérgico directo), diazóxido (Hyperstat, Schering Corporation, U.S.A, relajante no específico de la musculatura lisa vascular) y anhídrido carbónico (vasodilatador cerebral).

La noradrenalina (0.3-9 μ g), tiramina (50-500 μ g), serotonina (0.1-9 μ g), acetilcolina (0.01-1 μ g), isoproterenol (0.03-3 μ g) o diazóxido (0.3-9 mg) se administraron directamente en el lecho vascular cerebral a través del catéter colocado en la arteria temporal en dosis que producen efectos cerebrovasculares pero no sistémicos. Estos fármacos se disolvían en

solución salina isotónica (ClNa 0.9 %) a concentraciones adecuadas, de forma que para cada dosis el volumen inyectado era siempre menor de 0.5 ml.

Para analizar los efectos del CO₂ sobre el lecho vascular cerebral se hacía respirar a los animales una mezcla de aire y anhídrido carbónico al 10 %. La inhalación de CO₂ se llevó a cabo en cada animal sin anestesiarse en normoglucemia e hipoglucemia severa mediante una máscara especialmente diseñada. Esta máscara se colocaba al animal y se conectaba por medio de dos tubos a una doble válvula y ésta a una bolsa que contenía la mezcla gaseosa, dejando un mínimo de espacio muerto. Una vez colocada la máscara al animal, después de un período de acomodación de 5-10 minutos, se conectaba rápidamente a la bolsa de plástico que contenía la mezcla gaseosa de CO₂ al 10% en aire. De esta forma el animal inspiraba la mezcla gaseosa contenida en la bolsa y el aire espirado salía al medio ambiente. En estos experimentos los animales permanecían respirando el anhídrido carbónico durante 5-8 minutos y se registraban continuamente el flujo sanguíneo cerebral, la presión arterial y la frecuencia cardíaca. Antes y durante la inhalación del gas se tomaban muestras de sangre arterial para medir el pH y gases sanguíneos y la glucemia. Los animales, en general, toleraban bien la inhalación de CO₂ y aquellos experimentos en los que el animal presentaba signos evidentes de excitación y rechazo a la inhalación del CO₂ se desestimaban.

La Tabla I resume el número de experimentos realizados en este trabajo durante la hipoglucemia en el animal despierto.

TABLA I

Número de animales utilizados y de experimentos realizados en este trabajo.

	<u>Nº CABRAS</u>	<u>Nº EXPERIMENTOS</u>
1.- INDUCCION DE HIPOGLUCEMIA	15	62
2.- INDUCCION DE HIPOGLUCEMIA MAS PROPRANOLOL	4	10
3.- ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ADRENERGICA DURANTE LA HIPOGLUCEMIA		
- ACTIVIDAD ALFA	6	19
- ACTIVIDAD BETA	4	6
4.- ESTUDIO DE LA RESPUESTA VASCULAR CEREBRAL DURANTE LA HIPOGLUCEMIA		
a.) VASOCONSTRICTORA		
- CON NORADRENALINA	6	11
- CON TIRAMINA	5	10
- CON SEROTONINA	5	12
b.) VASODILATADORA		
- CON CO ₂	5	26
- CON ACETILCOLINA	6	17
- CON ISOPROTERENOL	5	14
- CON DIAZOXIDO	6	11

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

Los resultados obtenidos se expresan como la media \pm el error standard.

Para la prueba de significación de promedios se aplicó el índice "t" de Student y sus correspondientes límites del 95% de confianza. Una probabilidad menor del 5% en favor de la hipótesis de nulidad fue considerada de valor estadístico.

Los cálculos se realizaron con la ayuda de un microprocesador Hewlett-Packard HP-41C y un procesador Mac Intosh (Apple Computer).

RESULTADOS

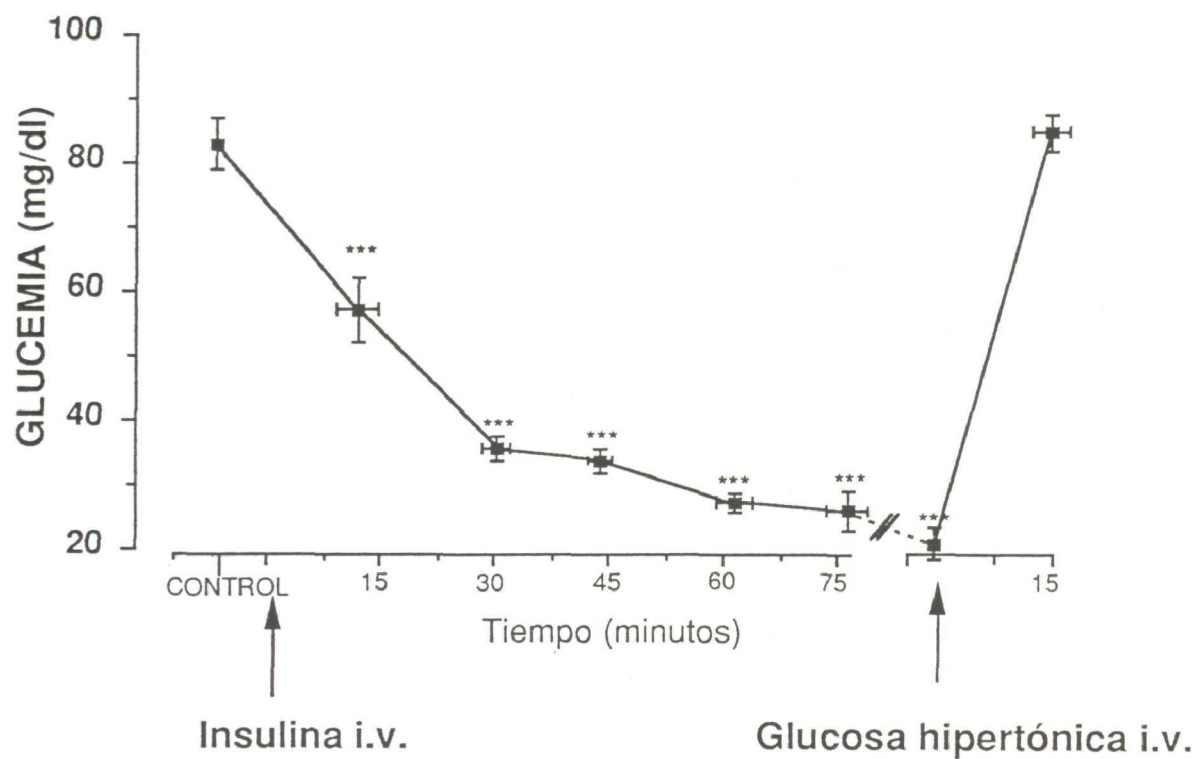
1.- EFECTO DE LA INSULINA SOBRE LA GLUCEMIA

En condiciones control la concentración de glucosa en sangre arterial en los 15 animales utilizados en este trabajo fué de 84 ± 4 mg/dl (rango = 62-119 mg/dl).

La administración intravenosa de insulina (5.5 ± 1.5 UI / Kg de peso) disminuyó la glucemia en todos los animales de forma progresiva. La hipoglucemia era manifiesta 10-15 minutos tras las dosis iniciales de insulina, moderada (46 ± 0.5 mg/dl) a los 30-45 minutos y severa (24 ± 0.5 mg/dl) al cabo de 45-60 minutos. Esta hipoglucemia severa (< 30 mg/dl) se mantenía con dosis añadidas de insulina (1-1.5 mg/Kg de peso) durante 1-2 horas más para realizar los experimentos dirigidos al estudio de la respuesta vascular cerebral.

Al término de los experimentos durante la hipoglucemia severa, la inyección intravenosa de glucosa al 50% (Glucosmón[®], 5.5 ± 0.5 gr) producía un aumento inmediato de la glucemia y al cabo de 10-20 minutos ésta era de 86 ± 3 mg/dl (rango=75-100 mg/dl).

La Figura 4 resume la evolución de la glucemia después de inyectar insulina y glucosa hipertónica.

**FIGURA 4**

Evolución de la glucemia (mg/dl \pm E.S.) en 15 animales tras la inyección intravenosa de insulina y de glucosa hipertónica.

*** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto a la glucemia control.

2.- EFECTOS CLINICOS DE LA HIPOGLUCEMIA

Durante la inducción de hipoglucemia se observaba a los animales con la finalidad de valorar las posibles alteraciones en su estado clínico. Durante la hipoglucemia moderada (31-50 mg/dl), la mayoría de los animales presentaban inquietud, piloerección, rumia y temblor. Durante la hipoglucemia severa (≤ 30 mg/dl) persistían o se acentuaban la rumia, piloerección y temblor, desaparecía la inquietud y aparecían, con frecuencia, hipocinesia y disminución de la respuesta motora frente a los estímulos habituales del laboratorio. Durante esta fase los animales se recostaban, a menudo, sobre la plataforma móvil y esto sucedía particularmente cuando la glucemia era inferior a 20 mg/dl; en estas condiciones 7 cabras se cayeron y una de ellas tuvo convulsiones. Todos estos síntomas remitían en 5-10 minutos al reponer la glucemia mediante la administración de glucosa por vía intravenosa. Aunque difícil de valorar, no se observaron alteraciones neurológicas focales ostensibles. La Tabla II detalla las alteraciones clínicas observadas en cada uno de los animales.

TABLA II

Manifestaciones clínicas observadas en los 15 animales durante la hipoglucemia moderada o severa.

	<u>INQUIETUD</u>	<u>TEMBLOR</u>	<u>RUMIA</u>	<u>HIPOCINESIA</u>	<u>CAIDA</u>	<u>CONVULSION</u>
CABRA						
1	SI	SI	X	SI	X	X
2	SI	SI	SI	X	SI	X
3	SI	SI	SI	SI	SI	X
4	X	SI	SI	X	X	X
5	SI	SI	SI	SI	X	X
6	SI	SI	SI	SI	X	X
7	SI	SI	SI	X	X	X
8	SI	SI	SI	SI	SI	X
9	SI	SI	X	SI	SI	X
10	SI	SI	SI	SI	SI	X
11	SI	X	SI	SI	X	X
12	SI	SI	SI	SI	SI	SI
13	X	SI	SI	SI	X	X
14	SI	SI	X	SI	SI	X
15	SI	SI	SI	X	X	X

X = No presentaban alteraciones ó no eran valorables

3.- EFECTOS HEMODINAMICOS DE LA HIPOGLUCEMIA

La Figura 5 muestra un ejemplo representativo de los efectos de la hipoglucemia y de la reposición de la misma sobre el flujo sanguíneo cerebral, presión arterial y frecuencia cardíaca. Los valores hemodinámicos así como los de los gases y pH sanguíneos obtenidos en todos los animales durante la normoglucemia e hipoglucemia se resumen en la Tabla III y Figuras 6 y 7.

FLUJO SANGUINEO CEREBRAL: Después de la inyección de insulina, el flujo sanguíneo cerebral aumentaba en todos los animales a medida que la glucemia disminuía, y el aumento era ya significativo cuando la glucemia era aproximadamente el 65% del valor normal. El máximo incremento ($\Delta=+34\pm4\%$) coincidía con la hipoglucemia severa, de tal manera que el flujo sanguíneo cerebral aumentó de 64 ± 2 ml/min (normoglucemia = 84 ± 4 mg/dl) a 87 ± 3 ml/min (hipoglucemia severa = 24 ± 0.5 mg/dl) ($p<0.001$) (Tabla III y Figuras 6 y 7).

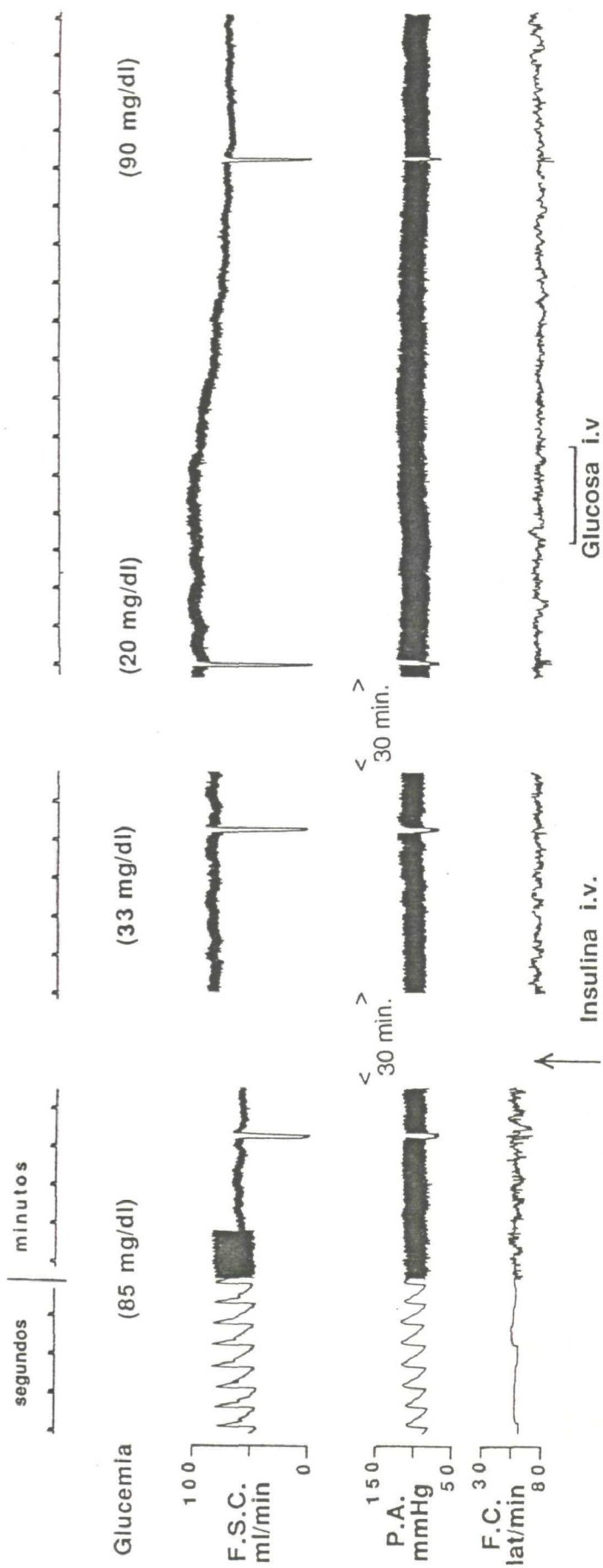


FIGURA 5.-

Trazos secuenciales de un registro del flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial sistémica (P.A.) y frecuencia cardíaca (F.C.) obtenidos de un animal despierto antes y después de la administrar insulina por vía i.v. y tras la inyección i.v. de glucosa hipertónica.

TABLA III

Valores (media \pm E.S.) de los parámetros hemodinámicos y pH y gases sanguíneos obtenidos en 15 cabras en condiciones control y en los diferentes niveles de hipoglucemia inducida por la inyección intravenosa de insulina.

GLUCEMIA (mg/dl)	CONTROL (84 \pm 4)	55 \pm 1***	46 \pm 0.5***	34 \pm 0.5***	24 \pm 0.5***
F.S.C. (ml/min)	64 \pm 2	75 \pm 4*	77 \pm 3***	81 \pm 5***	87 \pm 3***
P.A. (mm Hg)	96 \pm 2	105 \pm 6	103 \pm 3**	102 \pm 3*	100 \pm 4
R.V.C. (mmHg/ml/min)	1.56 \pm 0.06	1.42 \pm 0.09***	1.38 \pm 0.07***	1.31 \pm 0.06***	1.21 \pm 0.06***
F.C. (lat/min)	68 \pm 4	94 \pm 6*	91 \pm 6***	91 \pm 6***	90 \pm 5***
G.C. (ml/min)	2538 \pm 414	2675 \pm 255	2797 \pm 336	2980 \pm 513	3105 \pm 485*
pH	7.40 \pm 0.01	7.38 \pm 0.03	7.39 \pm 0.04	7.42 \pm 0.02	7.39 \pm 0.02
pO₂ (mm Hg)	77.6 \pm 1.6	75.9 \pm 0.3	70.8 \pm 4.2	79.9 \pm 3.6	77.4 \pm 3.9
pCO₂ (mm Hg)	34.1 \pm 1	36.4 \pm 1.5	34.3 \pm 1.4	32.4 \pm 0.7	35.9 \pm 0.6

F.S.C. = flujo sanguíneo cerebral; R.V.C. = resistencia vascular cerebral; P.A. = presión arterial sistémica; F.C. = frecuencia cardíaca; G.C. = gasto cardíaco (3 animales).

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001, estadísticamente significativo con respecto al control.

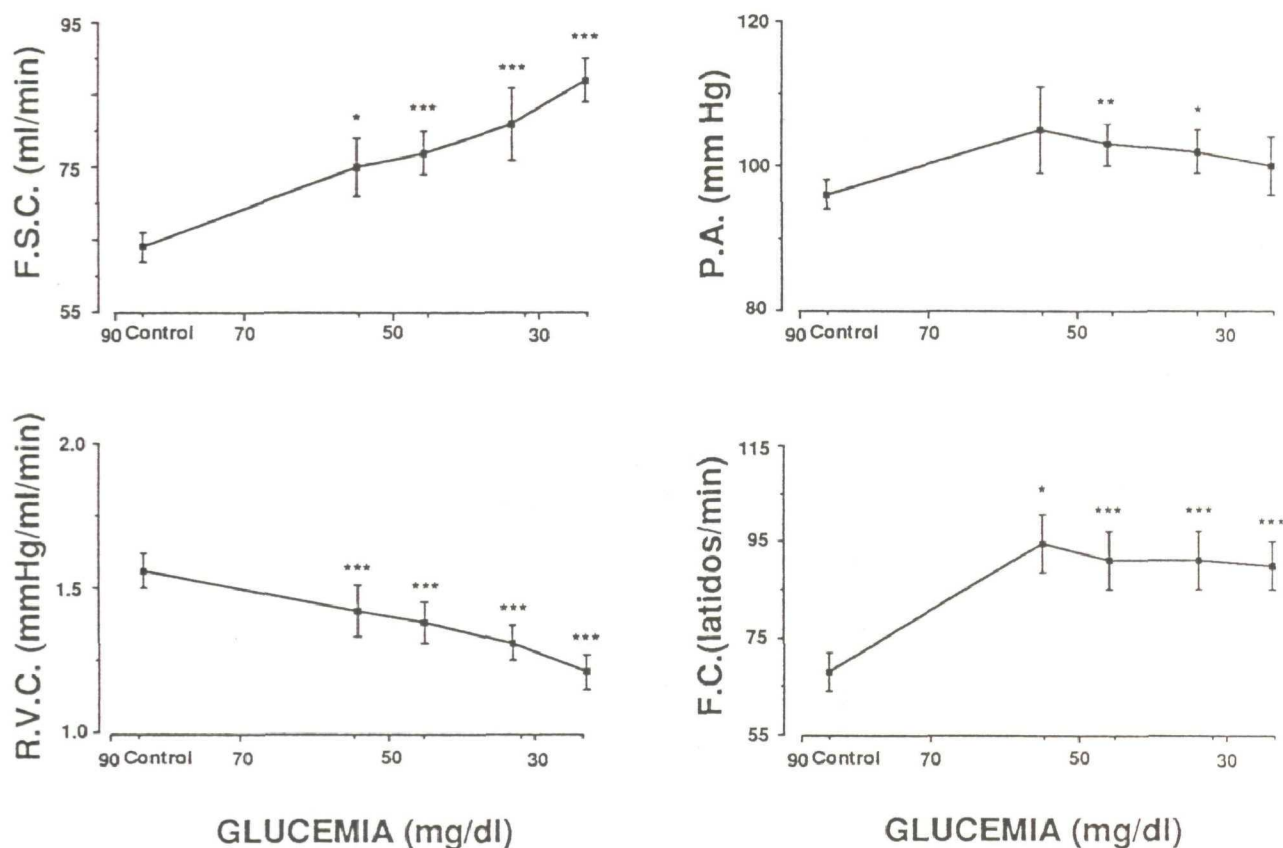


FIGURA 6

Evolución del flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial sistémica (P.A.), resistencia vascular cerebral (R.V.C.) y frecuencia cardíaca (F.C.) de 15 animales durante la hipoglucemia inducida por insulina.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto a los valores control (normoglucemia).

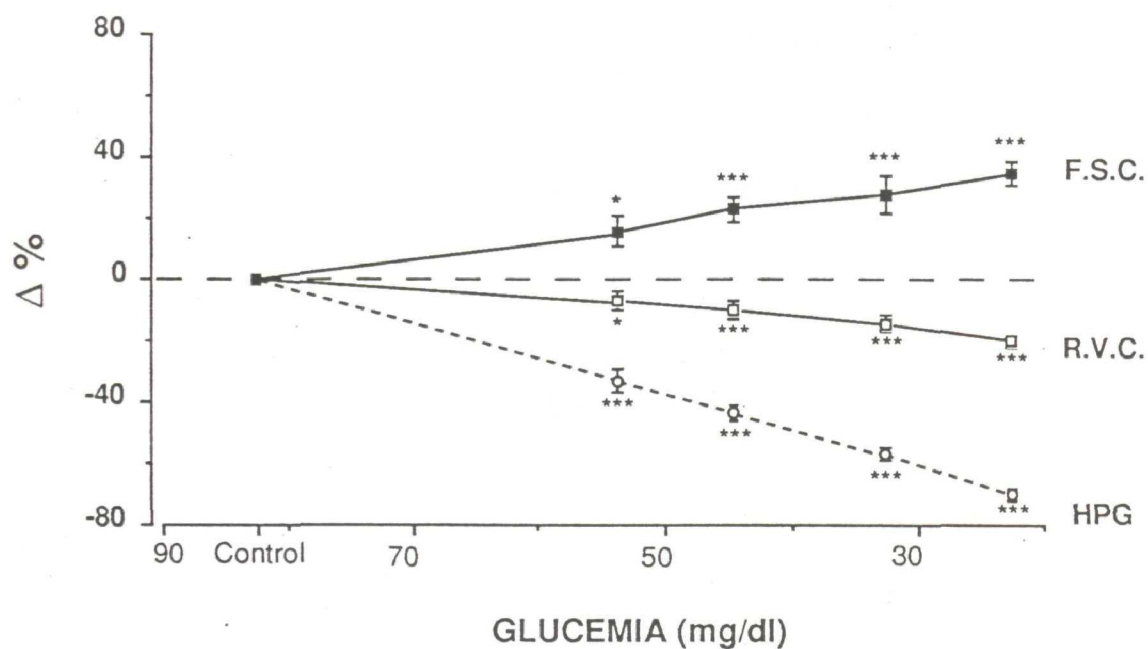


FIGURA 7

Evolución del flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) y de la resistencia vascular cerebral (R.V.C.) en relación con el curso de la hipoglucemia (HPG).

* $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto al control (normoglucemia).

La inyección de glucosa por vía intravenosa era seguida a los 5-10 minutos por un retorno progresivo del flujo sanguíneo cerebral hacia los valores controles coincidiendo con la recuperación de la glucemia. Sin embargo el flujo sanguíneo cerebral (74 ± 3 ml/min) permanecía ligera, pero significativamente ($p < 0.01$) elevado a los 20-30 minutos después de la inyección de la glucosa .

La resistencia vascular cerebral cambió durante la hipoglucemia de manera inversa al flujo sanguíneo cerebral. En normoglucemia era de 1.56 ± 0.06 mm Hg/ml/min y fué disminuyendo progresivamente hasta alcanzar un valor de 1.21 ± 0.06 mm Hg/ml/min en hipoglucemia severa ($p < 0.001$)(Tabla III y Figuras 6 y 7). Al restablecer la glucemia mediante glucosmón, la resistencia vascular cerebral (1.42 ± 0.05 mmHg/ml/min) tendía a recuperarse pero permanecía significativamente disminuída con respecto al control .

PRESION ARTERIAL: La presión arterial sistémica aumentó ligera pero significativamente ($p < 0.05$) en 6 de las 15 cabras durante la hipoglucemia moderada, coincidiendo con la excitación e inquietud motora, y se normalizaba durante la hipoglucemia severa, cuando los animales comenzaban a presentar hipocinesia. El aumento observado en estas 6 cabras es el responsable del aumento significativo de la presión arterial media que aparece en la Tabla III y en la Figura 6.

FRECUENCIA CARDIACA: En todos los animales la hipoglucemia se acompañaba de taquicardia. El aumento de la frecuencia cardíaca era variable de unos animales a otros, pero en general era evidente y mantenida cuando la hipoglucemia alcanzaba el 65% del control. La frecuencia cardíaca control fué de 68 ± 4 latidos/minuto, aumentaba a 94 ± 6 latidos/minuto ($p < 0.05$) durante la hipoglucemia leve (55 ± 1 mg/dl) y se mantenía aumentada durante la hipoglucemia moderada y severa (Tabla III y Figura 6). La taquicardia persistía tras la reposición de la glucemia con la inyección de Glucosmón® ($p < 0.001$).

pH Y GASES SANGUINEOS: El pH y gases sanguíneos medidos en sangre arterial obtenida a través del catéter colocado en la arteria temporal no se modificaron significativamente ($p > 0.05$) durante la hipoglucemia moderada o severa con respecto a los valores obtenidos en normoglucemia. (Tabla III).

GASTO CARDIACO: En los 3 animales en los que se registró, el gasto cardíaco en normoglucemia fué de 2538 ± 414 ml/min. Durante la inducción de hipoglucemia fué aumentando progresivamente hasta alcanzar durante la hipoglucemia severa (< 30 mg/dl) un valor de 3105 ± 485 ml/min; este incremento ($\Delta = +23 \pm 6\%$) resultó estadísticamente significativo ($p < 0.05$) con respecto al control. Asimismo, tras la inyección de Glucosmón® el gasto cardíaco (2742 ± 487 ml/min) permaneció aumentado ($\Delta = +8 \pm 8\%$), aunque no significativamente con respecto al valor control.

La Tabla IV detalla los cambios hemodinámicos inducidos por la hipoglucemia en cada uno de los animales.

TABLA IV

Cambios hemodinámicos en el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial sistémica (P.A.), resistencia vascular cerebral (R.V.C.), frecuencia cardíaca (F.C.) y gasto cardíaco (G.C.) observados en cada uno de los 16 animales durante la hipoglucemia moderada o severa.

<u>CABRA</u>	<u>F.S.C.</u>	<u>P.A.</u>	<u>R.V.C.</u>	<u>F.C.</u>	<u>G.C.</u>
1	↑	=	↓	↑	/
2	↑	=	↓	↑	/
3	↑	=	↓	↑	/
4	↑	=	↓	↑	/
5	↑	=	↓	↑	/
6	↑	=	↓	↑	/
7	↑	↑	↓	↑	↑
8	↑	↑	↓	↑	/
9	↑	↑	↓	↑	/
10	↑	↑	↓	↑	/
11	↑	↑	↓	↑	/
12	↑	=	↓	↑	/
13	↑	=	↓	↑	/
14	↑	↑	↓	↑	/
15	↑	=	↓	↑	↑
16	/	=	/	↑	↑

↑, aumenta; ↓, disminuye; =, sin cambios; /, no registrado.

4.-EFECTOS HEMODINAMICOS DE LA HIPOGLUCEMIA DURANTE EL TRATAMIENTO CON EL PROPRANOLOL

Los efectos hemodinámicos producidos por la hipoglucemia durante el tratamiento con el bloqueante beta-adrenérgico propranolol (infusión directa en la circulación cerebral simultánea a la administración de insulina por vía i.v.) aparecen resumidos en la Tabla V y en la Figura 8.

En los 4 animales tratados con propranolol, después de inyectar la insulina, la glucemia alcanzó también valores de hipoglucemia moderada (40 ± 1.5 mg/dl) y severa (22 ± 1 mg/dl) similares a los de los animales en ausencia de dicho tratamiento. Asimismo, las alteraciones clínicas observadas durante la hipoglucemia fueron similares en ambas condiciones.

El flujo sanguíneo cerebral experimentó un aumento significativo durante la hipoglucemia severa que fué similar en los animales sin o con tratamiento con propranolol. Sin embargo, durante la fase de hipoglucemia moderada los animales no tratados ya presentaban un incremento significativo ($p < 0.05$) de flujo sanguíneo cerebral mientras que durante el tratamiento con propranolol el flujo sanguíneo cerebral todavía no estaba aumentado significativamente ($p > 0.05$). Así pues, el tratamiento con propranolol retrasó la aparición del incremento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia, aunque cuando ésta era severa el aumento llegaba a ser significativamente igual sin ó con tratamiento.

TABLA V

Valores (media \pm E.S.) del flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial sistémica (P.A.), resistencia vascular cerebral (R.V.C.) y frecuencia cardíaca (F.C.) obtenidos durante la normoglucemia y durante la hipoglucemia moderada y severa en 4 animales no tratados (NT) ó tratados con propranolol (TP).

	<u>NORMOGLUCEMIA</u>		<u>HIPOG. MODERADA</u>		<u>HIPOG. SEVERA</u>	
	<u>NT</u>	<u>TP</u>	<u>NT</u>	<u>TP</u>	<u>NT</u>	<u>TP</u>
GLUCEMIA (mg/dl)	88 \pm 3	98 \pm 6	38 \pm 1	40 \pm 1.5	23 \pm 2	22 \pm 1
F.S.C. (ml/min)	62 \pm 7	60 \pm 6	75 \pm 4	67 \pm 5*	80 \pm 8	78 \pm 7
P.A. (mm Hg)	98 \pm 2	98 \pm 4	108 \pm 5	98 \pm 5**	105 \pm 4	95 \pm 7*
R.V.C. (mmHg/ml/min)	1.7 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	1.5 \pm 0.1	1.5 \pm 0.1	1.4 \pm 0.2	1.3 \pm 0.2
F.C. (lat/min)	77 \pm 7	66 \pm 4	104 \pm 11	93 \pm 9	107 \pm 12	82 \pm 5*

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto a los valores en los animales no tratados.

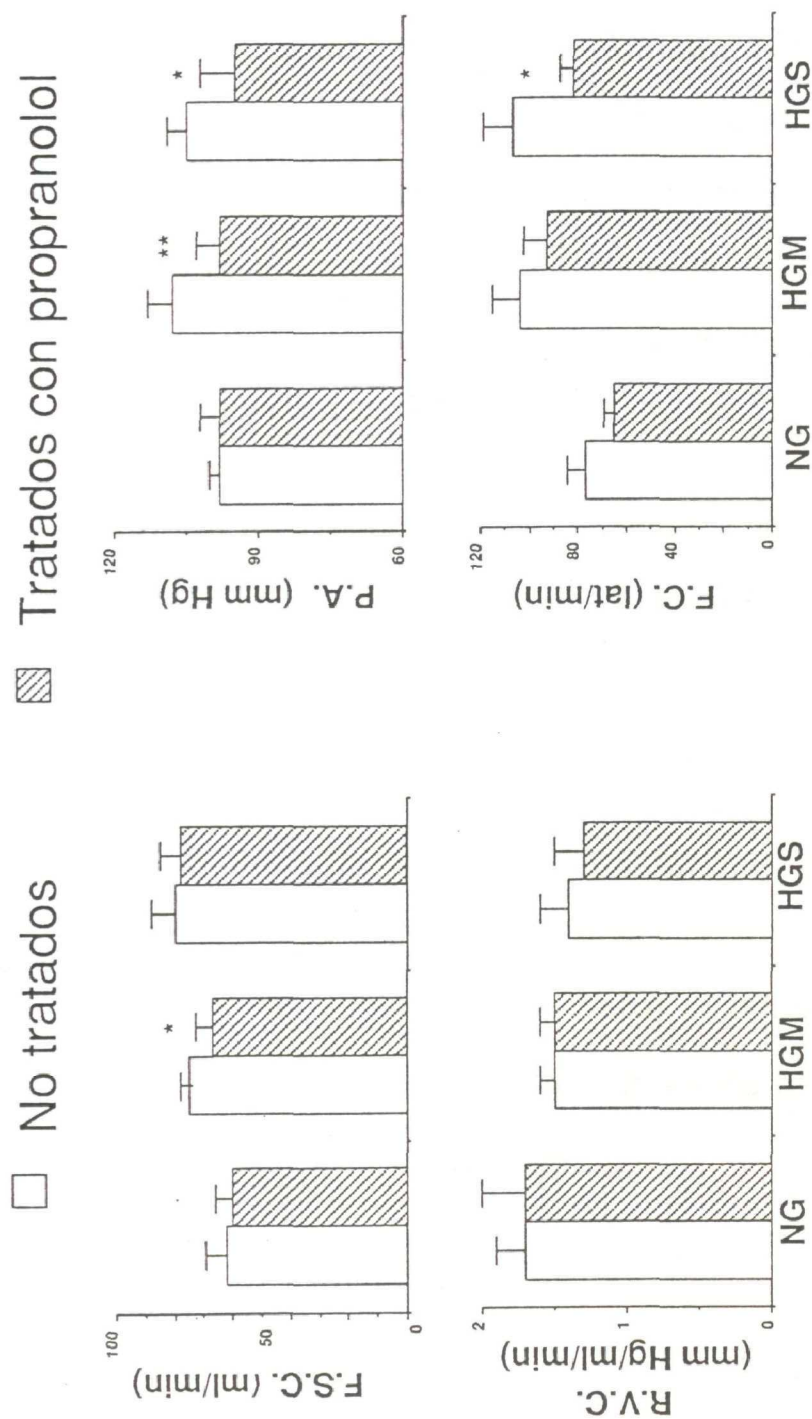


FIGURA 8

Cambios (media \pm E.S.) en el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial sistémica (P.A.), resistencia vascular cerebral (R.V.C.) y frecuencia cardíaca (F.C.) en normoglucemia (NG), hipoglucemia moderada (HGM) e hipoglucemia severa (HGS) obtenidos en 4 animales no tratados ó tratados con propranolol.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto a la situación control.

La resistencia vascular cerebral disminuyó durante la hipoglucemia moderada y severa, y esta disminución no fué significativamente distinta ($p>0.05$) estando o no tratadas con propranolol.

La presión arterial sistémica aumentaba, aunque no significativamente ($p>0.05$), durante la hipoglucemia moderada y severa en los animales no tratados. Cuando estaban tratados con propranolol, la presión arterial durante la hipoglucemia moderada y severa no se modificaba y era significativamente menor ($p<0.05$) que en ausencia del tratamiento.

La frecuencia cardíaca aumentó significativamente ($p<0.05$) durante la hipoglucemia moderada y severa en ambas situaciones; sin embargo en los animales tratados con propranolol la taquicardia en hipoglucemia severa fué significativamente menor que en los no tratados.

Por tanto, el tratamiento con propranolol retrasa la aparición del incremento de flujo sanguíneo cerebral y disminuye los efectos sistémicos (presión arterial y frecuencia cardíaca) producidos por la hipoglucemia cuando se compara con lo observado en los animales no tratados con este bloqueante beta-adrenérgico.

5.- ACTIVIDAD ALFA Y BETA ADRENERGICA CEREBROVASCULAR DURANTE LA HIPOGLUCEMIA

a.) La fentolamina (1-1.5 mg), inyectada directamente en la circulación cerebral en 6 cabras, incrementó el flujo sanguíneo cerebral de forma similar en condiciones control y durante la hipoglucemia severa (glucemia < 30 mg/dl). Durante la normoglucemia este aumento fué del $37 \pm 6\%$ y durante la hipoglucemia severa fué del $35 \pm 8\%$ ($p > 0.05$). En ambas condiciones, la fentolamina no modificó significativamente la presión arterial ni la frecuencia cardíaca.

b.) La administración de propranolol (1-2 mg.) en la circulación cerebral en 4 cabras disminuyó el flujo sanguíneo cerebral significativamente igual ($p > 0.05$) durante la normoglucemia ($\Delta = -17.7 \pm 2.3\%$) e hipoglucemia severa ($\Delta = -11.25 \pm 1.4\%$). Este fármaco no produjo efectos sistémicos en ámbas situaciones.

Los resultados sobre el flujo sanguíneo cerebral obtenidos con fentolamina (bloqueante alfa-adrenérgico) y propranolol (bloqueante beta-adrenérgico) se resumen en la Figura 9.

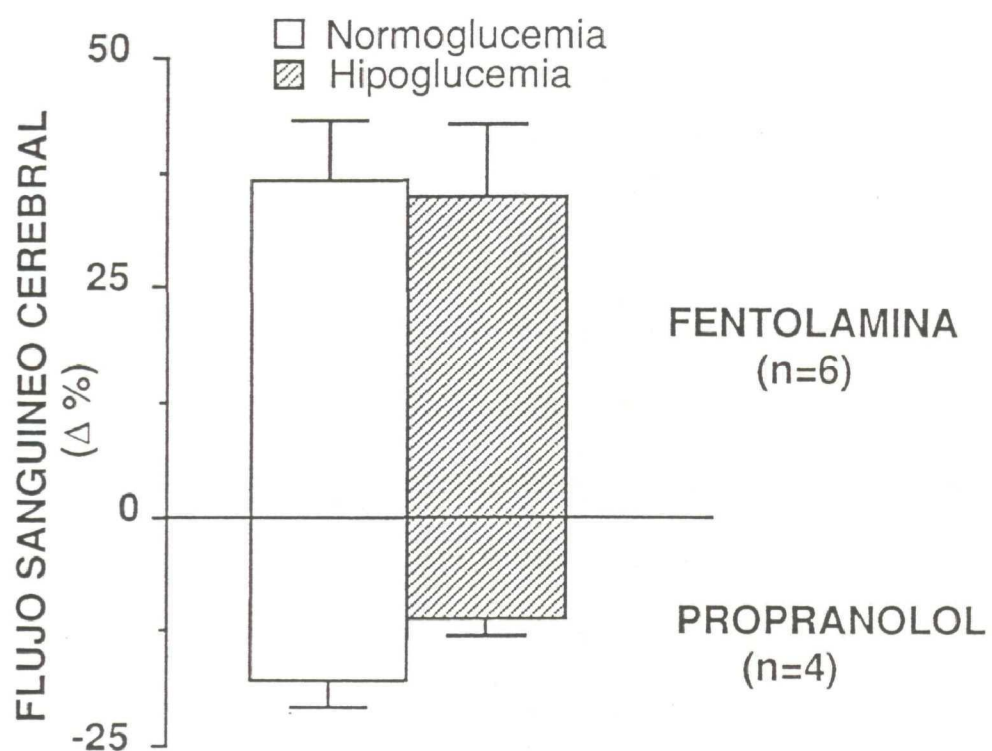


FIGURA 9

Efectos de la fentolamina y del propranolol sobre el flujo sanguíneo cerebral en normogluemia (84 ± 7 mg/dl) e hipogluemia severa (22 ± 2 mg/dl).

6.- RESPUESTA VASCULAR CEREBRAL DURANTE LA HIPOGLUCEMIA

a) ESTIMULOS VASOCONSTRICTORES

En 6 cabras, la administración de noradrenalina (0.3-9 μ g) directamente en la arteria maxilar interna disminuyó el flujo sanguíneo cerebral y este efecto dependía de la dosis inyectada. Sin embargo, la reducción del flujo sanguíneo cerebral producida por esta catecolamina fué significativamente menor ($p < 0.05$) durante la hipoglucemia severa que en la situación control. La administración de este fármaco no produjo modificaciones en la presión arterial ni en la frecuencia cardíaca en ámbas condiciones.

La Figura 10 muestra un ejemplo indicando la acción de la noradrenalina sobre el flujo sanguíneo cerebral antes y durante la hipoglucemia severa y la Figura 11 resume los resultados obtenidos en los 6 animales.

La tiramina (50-500 μ g), inyectada directamente en la circulación cerebral en 5 animales, produjo una reducción del flujo sanguíneo cerebral dependiente de la dosis y sin alterar la presión arterial sistémica ni la frecuencia cardíaca. El efecto vasoconstrictor cerebral producido por este simpaticomimético indirecto resultó ser, sin embargo, significativamente menor ($p < 0.05$) en las cabras con hipoglucemia severa que con normoglucemia (Figura 12).

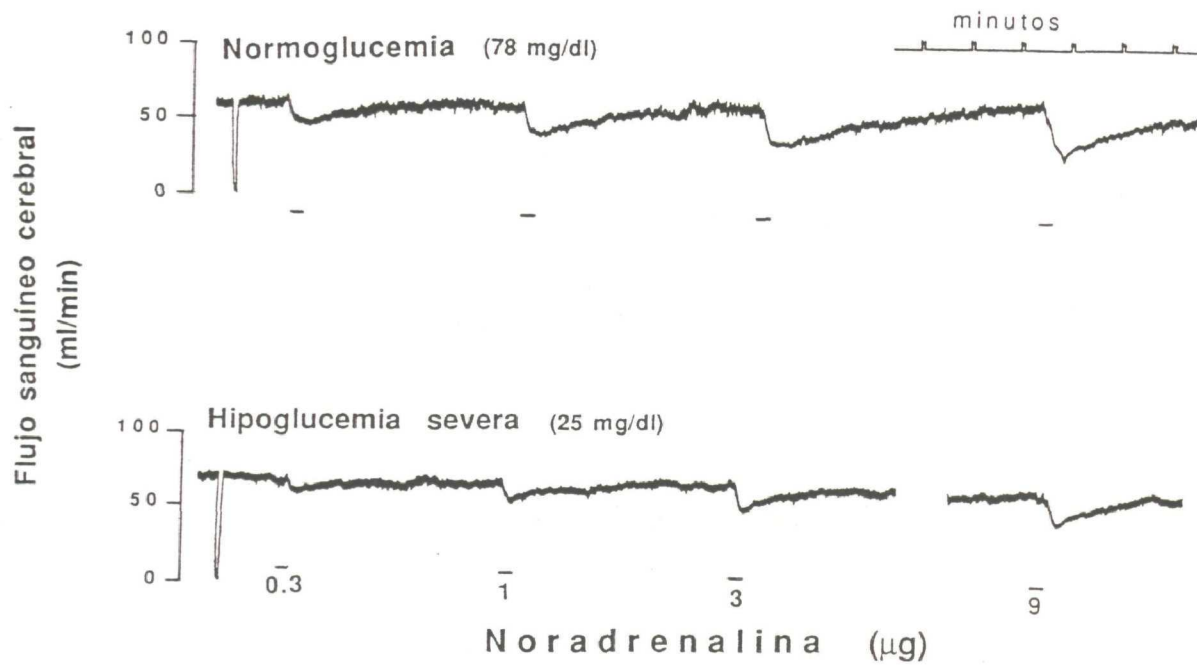


FIGURA 10.-

Registro del flujo sanguíneo cerebral con los efectos de la noradrenalina administrada directamente en el lecho vascular cerebral de un animal en normoglucemia y en hipoglucemia severa.

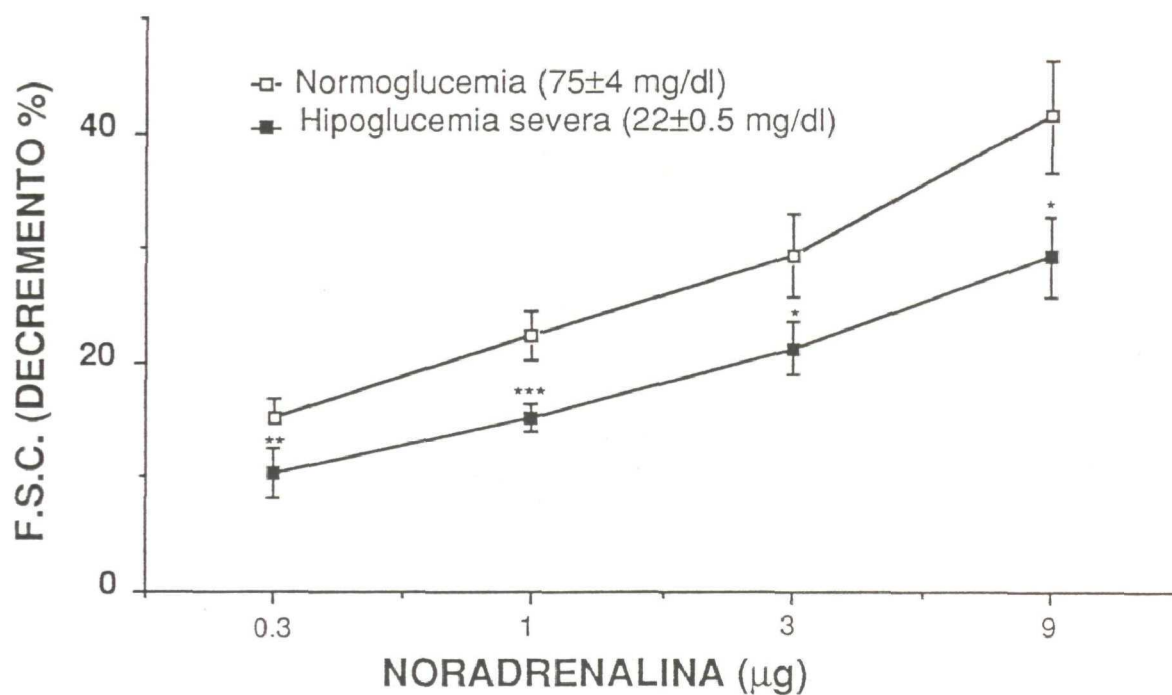


FIGURA 11

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por la noradrenalina sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 6 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de reducción y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

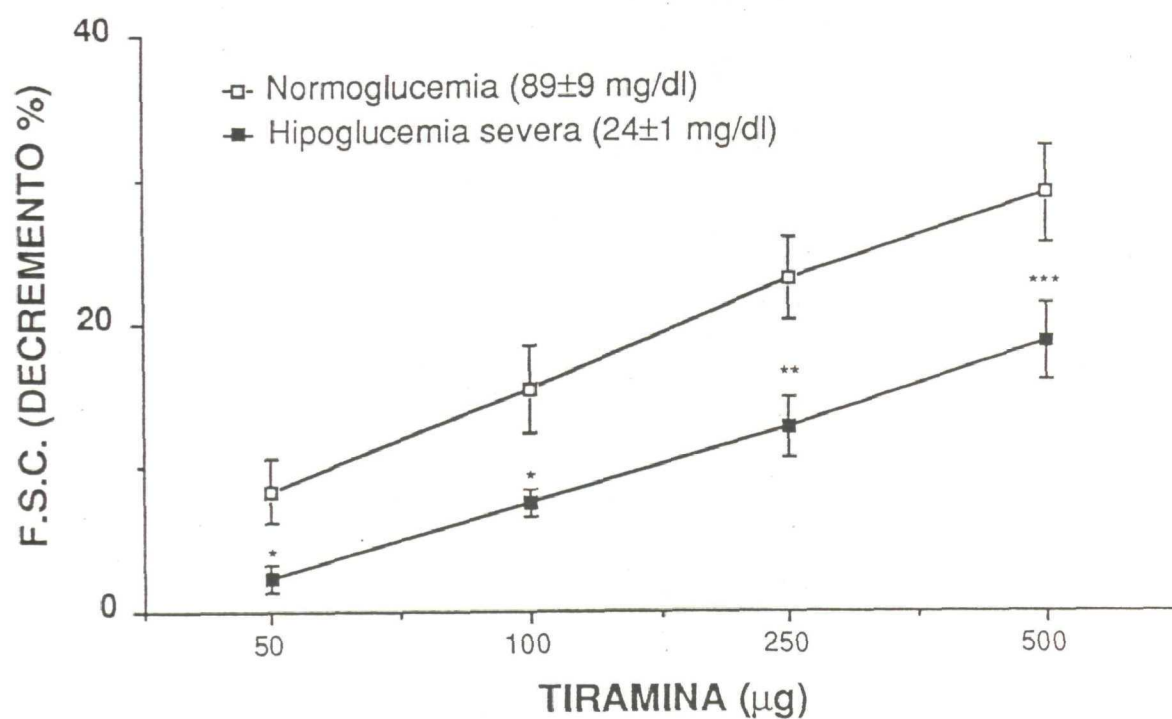


FIGURA 12

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por la tiramina sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 5 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de reducción y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

La serotonina (0.1-9 μ g), inyectada directamente en la arteria maxilar interna en 5 cabras, redujo el flujo sanguíneo cerebral y este efecto dependía de la dosis administrada. La serotonina no cambió la presión arterial ni la frecuencia cardíaca. Sin embargo, la disminución del flujo sanguíneo cerebral inducida por esta amina fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los animales con hipoglucemia severa en comparación con la producida en los animales con normoglucemia (Figura 13).

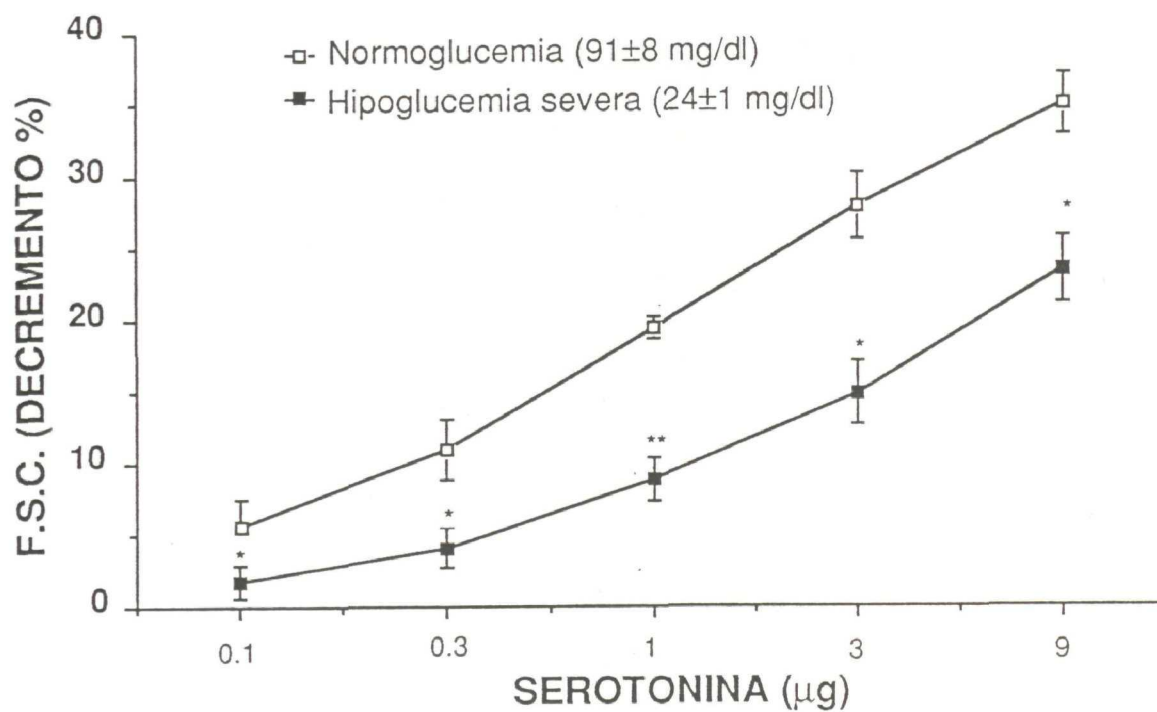


FIGURA 13

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por la serotonina sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 5 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de reducción y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

b) ESTIMULOS VASODILATADORES

El efecto del anhídrido carbónico sobre la circulación cerebral se estudió en 5 animales con normoglucemia e hipoglucemia severa y los resultados se resumen en la Tabla VI. La inhalación de CO₂ al 10% en aire fué relativamente bien tolerada por los animales en ambas condiciones, aunque durante la hipoglucemia los animales tenían una mayor tendencia a mostrar intranquilidad. Como era de esperar, durante la inhalación de este gas las cabras presentaban taquipnea, reducción del pH y aumento de pO₂ y pCO₂ sanguíneas. Estos efectos sistémicos del CO₂ fueron estadísticamente similares en normoglucemia e hipoglucemia severa, excepto en los cambios de la pCO₂. La inhalación del gas aumentó la pCO₂ más en hipoglucemia severa que en normoglucemia ($p < 0.05$).

La inhalación de CO₂ aumentó el flujo sanguíneo cerebral en todos los animales con normoglucemia e hipoglucemia severa. (Figura 14) y el flujo sanguíneo cerebral total que se alcanzaba durante la hipercapnia fué significativamente igual ($p > 0.05$) en ambas condiciones (Tabla VI y Figura 15). Ahora bien, mientras que en normoglucemia el flujo sanguíneo cerebral aumentó de 62 ± 4 ml/min (control) a 105 ± 9 ml/min (CO₂) ($\Delta = +70 \pm 6\%$), en hipoglucemia severa el flujo sanguíneo cerebral aumentó de 90 ± 14 ml/min (control) a 115 ± 19 ml/min (CO₂) ($\Delta = +28 \pm 6\%$). Por tanto, el incremento del flujo sanguíneo cerebral producido por la hipercapnia fué claramente menor ($p < 0.05$) durante la hipoglucemia severa que durante la normoglucemia (Figura 15).

TABLA VI

Efectos de la inhalación de CO₂ sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.), presión arterial (P.A.), resistencia vascular cerebral (R.V.C.), frecuencia cardíaca (F.C.), pH y gases sanguíneos obtenidos durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores se expresan por la media \pm E.S.

	NORMOGLUCEMIA				HIPOGLUCEMIA SEVERA			
	(87 \pm 5 mg/dl)		Δ %		(25 \pm 2 mg/dl)		Δ %	
	CONTROL	CO ₂			CONTROL	CO ₂		
F.S.C. (ml/min)	62 \pm 4	105 \pm 9**		(+70 \pm 6%)	90 \pm 14	114 \pm 9 *		(+28 \pm 6%) ⁺
P.A. (mm Hg)	101 \pm 8	109 \pm 8*			85 \pm 19	105 \pm 4		
R.V.C. (mmHg/ml/min)	1.7 \pm 0.2	1.1 \pm 0.1**		(-34 \pm 7%)	1.23 \pm 0.2	1.0 \pm 0.1*		(-18 \pm 3%) ⁺
F.C. (lat/min)	66 \pm 4	78 \pm 5			79 \pm 5	89 \pm 8		
pH	7.43 \pm 0.04	7.20 \pm 0.07*			7.45 \pm 0.06	7.20 \pm 0.06***		
pO ₂ (mm Hg)	82.3 \pm 1.7	93.4 \pm 3.5**			82.2 \pm 1.7	103.1 \pm 1.2**		
pCO ₂ (mm Hg)	33.9 \pm 0.5	48.9 \pm 2.5**			37.7 \pm 1.0	62.2 \pm 2.3***		

* p<0.05 y ** p<0.01; *** p<0.001 con respecto a los valores en condiciones control.

⁺ p<0.05 con respecto a los cambios producidos por el CO₂ en normoglucemia.

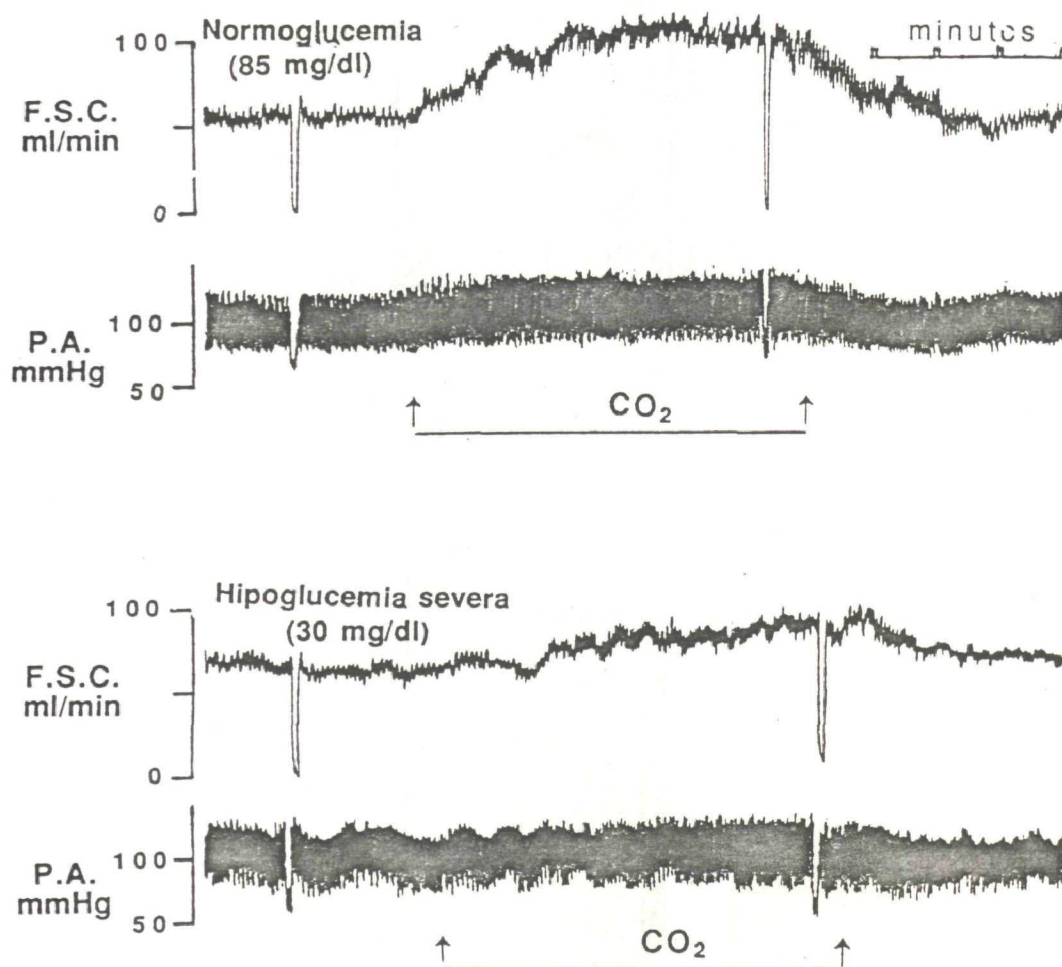


FIGURA 14.-

Registro del flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) y de la presión arterial sistémica (P.A.) antes y durante la inhalación de CO₂ al 10% en un animal con normoglucemia e hipoglucemia severa.

FLUJO SANGUINEO CEREBRAL

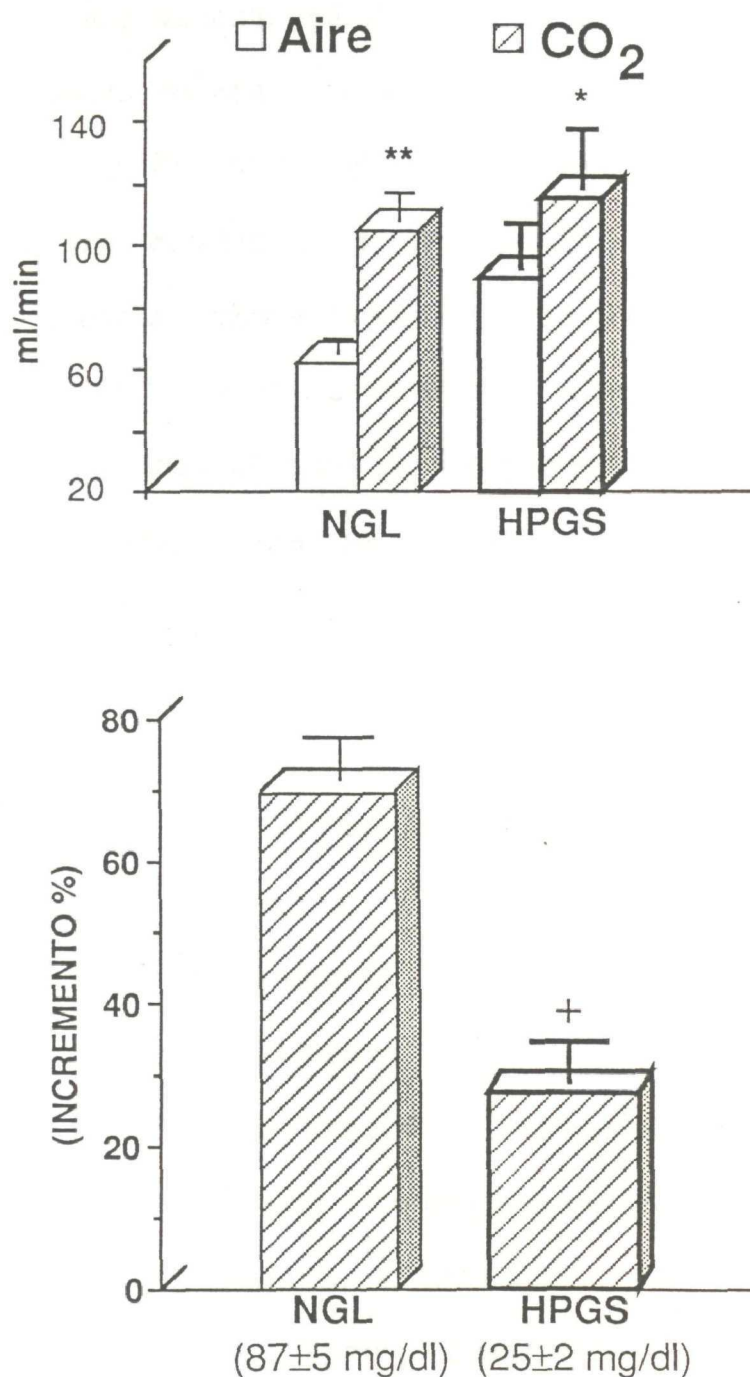


FIGURA 15

Efectos de la inhalación de CO₂ sobre el flujo sanguíneo cerebral de 5 animales en normoglucemia (NGL) e hipoglucemia severa (HPGS). Los valores del flujo sanguíneo cerebral se expresan en ml/min \pm E.S. (arriba) y en % de aumento \pm E.S. (abajo).

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto al control (inhalación de aire) (arriba).

+ $p < 0.05$, estadísticamente significativo con respecto al incremento % observado durante la inhalación de CO₂ en normoglucemia (abajo).

La resistencia vascular cerebral se comportó -como era de esperar- de manera inversa al flujo sanguíneo cerebral durante la inhalación del CO₂. En normoglucemia la hipercapnia disminuyó la resistencia vascular cerebral un $34 \pm 7\%$ ($p < 0.01$), mientras que en hipoglucemia severa la resistencia vascular cerebral disminuyó sólo un $18 \pm 3\%$ ($p < 0.05$). Así pues, la disminución de la resistencia vascular cerebral durante la hipercapnia fué significativamente menor ($p < 0.05$) durante la hipoglucemia severa que durante la normoglucemia (Tabla VI).

La acetilcolina (0,01 - 1 μ g) , administrada directamente en la circulación cerebral en 6 cabras, produjo un incremento del flujo sanguíneo cerebral dependiente de la dosis inyectada en normoglucemia e hipoglucemia severa. La Figura 16 muestra un registro de la acción de la acetilcolina sobre el flujo sanguíneo cerebral en un animal con hipoglucemia severa y normoglucemia. El incremento del flujo sanguíneo cerebral producido por este fármaco fué, sin embargo, significativamente menor ($p < 0.05$) en las cabras hipoglucémicas que en los animales con normoglucemia (Figura 17). Las dosis más altas de acetilcolina (0.3 y 1 μ g) produjeron hipotensión arterial en ámbas situaciones, pero estos efectos eran posteriores a los producidos en la circulación cerebral.

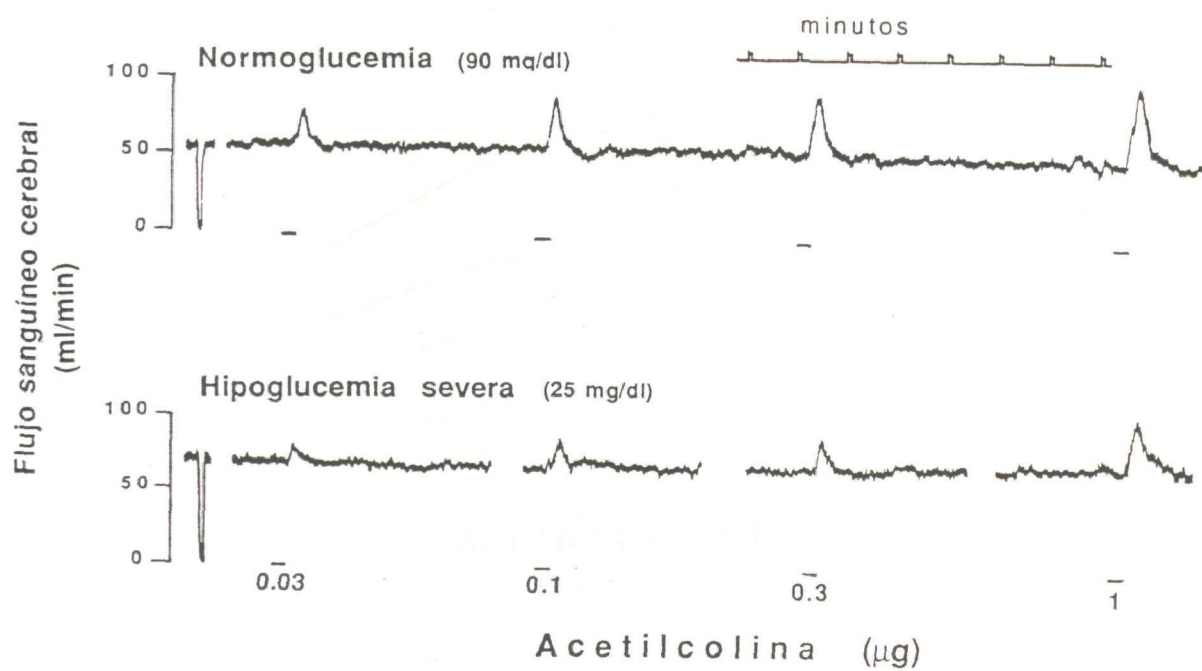


FIGURA 16.-

Registro del flujo sanguíneo cerebral con los efectos de la acetilcolina administrada directamente en el lecho vascular cerebral en un animal en normoglucemia e hipoglucemia severa.

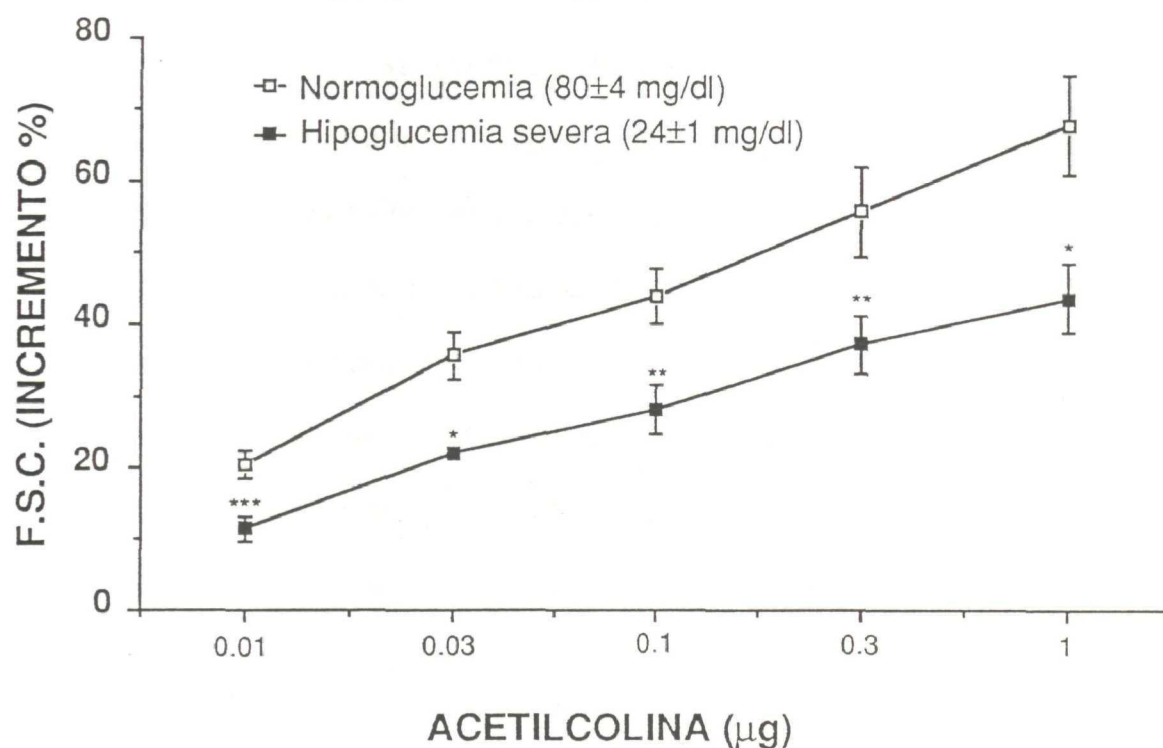


FIGURA 17

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por la acetilcolina sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 6 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de aumento y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

El agonista beta-adrenérgico isoproterenol (0.03-3 μg), administrado directamente en la arteria maxilar interna en 5 animales, incrementó el flujo sanguíneo cerebral dependiendo de la dosis. Cuando se inyectaban las dosis más altas (1 y 3 μg) aparecía taquicardia e hipotensión arterial como consecuencia de la recirculación del fármaco. Sin embargo, la vasodilatación cerebral precedió siempre a los efectos sistémicos, de forma que los efectos vasculares cerebrales pudieron ser claramente diferenciados. El aumento del flujo sanguíneo cerebral inducido por el isoproterenol fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los animales con hipoglucemia severa que en los animales en situación control (Figura 18) .

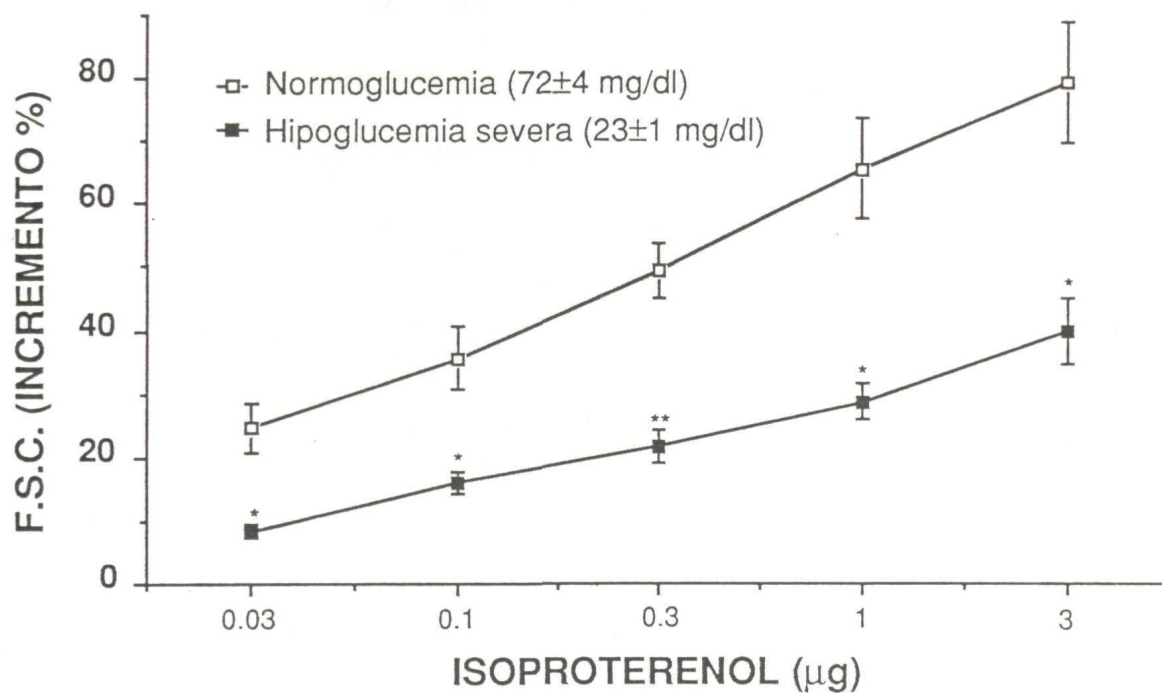


FIGURA 18

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por el isoproterenol sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 5 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de aumento y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

El diazóxido (0.3-9 mg), administrado directamente en la circulación cerebral en 6 cabras, incrementó el flujo sanguíneo cerebral dependiendo de la dosis sin alterar la presión arterial ni la frecuencia cardíaca. El aumento del flujo sanguíneo cerebral fué, sin embargo, significativamente menor ($p < 0.05$) en los animales con hipoglucemia severa que con normoglucemia (Figura 19).

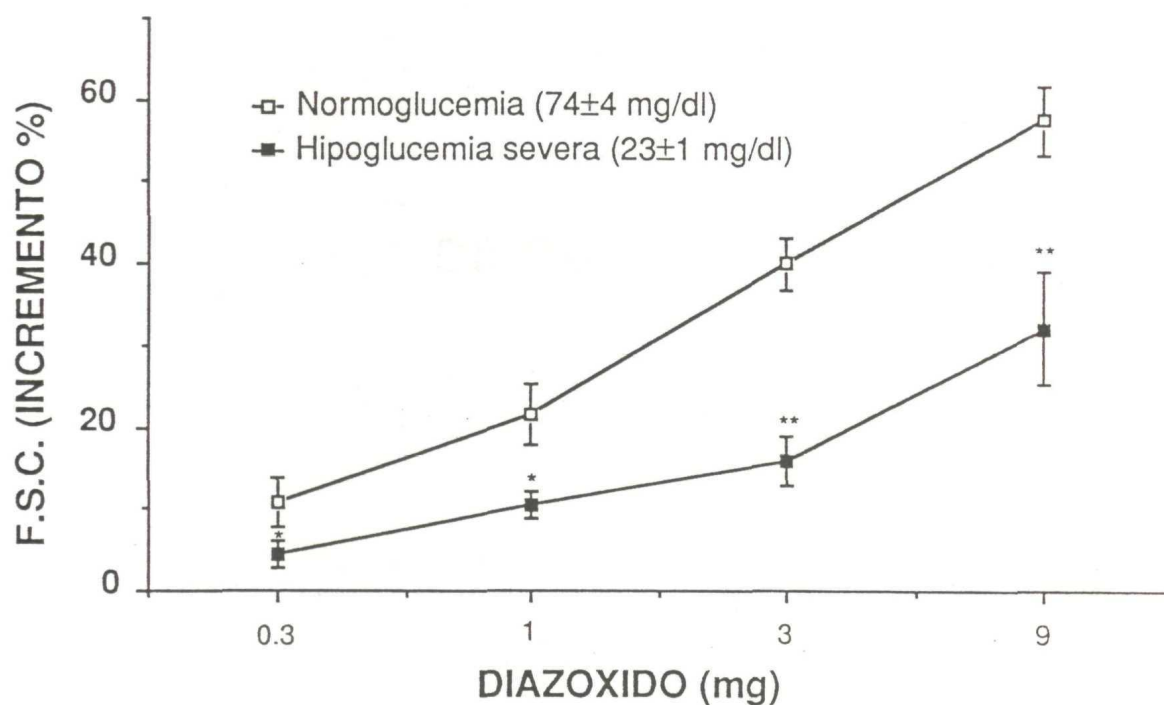


FIGURA 19

Curva dosis-respuesta de los efectos producidos por el diazóxido sobre el flujo sanguíneo cerebral (F.S.C.) en 6 animales durante la normoglucemia e hipoglucemia severa. Los valores del F.S.C. expresan el % de aumento y están representados por la media \pm E.S.

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, estadísticamente significativo con respecto a la normoglucemia.

DISCUSION

La hipoglucemia es una entidad clínica relativamente frecuente y, a menudo, produce alteraciones neurológicas como consecuencia del daño cerebral. Uno de los factores que pueden intervenir en la fisiopatología del daño cerebral durante la hipoglucemia es la alteración de la circulación cerebral. Sin embargo, los experimentos dirigidos al estudio de la hemodinámica cerebral y de la capacidad funcional de los vasos cerebrales durante la hipoglucemia son escasos y los resultados disponibles son confusos. La mayoría de los estudios se han realizado en animales anestesiados y las mediciones del flujo sanguíneo cerebral son esporádicas y recortadas en el tiempo. En nuestro trabajo hemos utilizado un modelo experimental que ofrece varias ventajas con respecto a los utilizados por otros investigadores (2, 26, 107, 136). En nuestro modelo, los animales están despiertos y es posible monitorizar constantemente las variables hemodinámicas en una situación que se aproxima a las condiciones de los pacientes en la clínica. Además, permite administrar diversas sustancias vasoactivas directamente en la circulación cerebral y estudiar sus efectos selectivos en este lecho vascular durante la hipoglucemia.

Para inducir la hipoglucemia hemos utilizado insulina cristalina porcina monocomponente por vía intravenosa como se ha hecho en otros estudios en animales (2, 26, 79, 111, 119, 136) y en humanos (78, 107). La dosis inicial elegida por nosotros (5.5 ± 1.5 UI/Kg de peso) ha sido menor que en experimentos llevados a cabo en ratas en los que las dosis medias empleadas oscilaron entre 15 y 40 UI/Kg de peso (2, 26, 136), pero es mayor que la utilizada en humanos en los que la dosis de

insulina inyectada es de 0.15-0.5 UI/Kg (78, 107). En general, la dosis empleada por nosotros ha sido suficiente para alcanzar cifras de hipoglucemia severa (< 30 mg/dl), similares a las referidas por otros en animales despiertos y en humanos (26, 65, 78, 102, 107) y pueden ser válidas para llevar a cabo los objetivos de nuestro trabajo.

En tres de los quince animales pudimos constatar que la dosis de insulina de 5.5 ± 1.5 UI/Kg no era suficiente para conseguir cifras bajas de glucemia y hubo que aumentarla hasta 10-15 UI/Kg. Atribuimos este hecho a la existencia de resistencia a la insulina en estos casos. Es sabido que la resistencia aguda a la insulina aparece con cierta frecuencia en pacientes después de intervenciones quirúrgicas, traumatismos, stress, infecciones y se han referido varios mecanismos como responsables de este fenómeno. Uno de ellos es el aumento de la concentración plasmática de hormonas suprarrenales y de glucagón que aparece en estas circunstancias y, asimismo, podría contribuir a ello la presencia en el plasma de un factor anti-insulina (89). Por otra parte, cuando se repetían varios experimentos en el mismo animal, en alguno de ellos pudimos observar la aparición de resistencia tardía, lo que nos obligaba a aumentar la dosis de insulina hasta conseguir las cifras de hipoglucemia deseadas. Es sabido que este tipo de resistencia tardía a la insulina aparece frecuentemente relacionada con la producción de anticuerpos plasmáticos que se unen a la insulina y esta resistencia suele aparecer al reanudar la administración de insulina después de varios días (89). Nosotros no hemos comprobado si tales casos eran debidos a esta circunstancia, pero como la administración de insulina no

se efectuaba diariamente en cada animal sino que en ocasiones mediaban varios días entre un experimento y el siguiente, tal vez en estos casos se desarrollara resistencia tardía a la insulina.

El efecto hipoglucemiante de la insulina comenzaba a hacerse evidente a los 10-15 minutos después de la inyección y a partir de este momento la glucemia seguía disminuyendo progresivamente hasta alcanzar valores de hipoglucemia severa (24 ± 0.5 mg/dl, equivalentes a 1.33 ± 0.22 mmol/L). La glucemia normal de la cabra (84 ± 4 mg/dl) es menor que la referida en ratas (150 mg/dl) (26, 136), y es similar a la observada en humanos (76-110 mg/dl) (65, 78, 102, 107). Las cifras de hipoglucemia severa alcanzada en nuestros experimentos son menos acentuadas que las producidas en otros laboratorios en ratas con coma insulínico en las que se alcanzaban niveles de 0.19-0.44 mmol/L (aproximadamente = 8 mg/dl) (2, 111, 119, 136). Sin embargo, nuestros valores de hipoglucemia severa no resultan muy distintos de los conseguidos por otros en ratas despiertas ($1.51 - 2.63$ μ mol/ml \approx 27-47 mg/dl) (26). Asimismo, la hipoglucemia inducida en nuestro modelo se asemeja a la referida en pacientes que presentan manifestaciones neurológicas con hipoglucemia considerada severa (30-40 mg/dl) (65, 78, 102, 107). Por tanto, consideramos que las cifras de hipoglucemia alcanzadas en nuestro trabajo son comparables a las referidas en pacientes con alteraciones neurológicas y suficientes para poder analizar sus efectos sobre la circulación cerebral.

Es conocido que en pacientes con hipoglucemia se produce un aumento de la actividad simpática expresada por temblor, palpitaciones,

nerviosismo, hambre, sudoración (51, 78, 102). En nuestros experimentos los animales con hipoglucemia mostraban intranquilidad, temblor, piloerección, rumia y taquicardia. Estas manifestaciones, que ya eran evidentes en la hipoglucemia moderada (40 - 50 mg/dl), pueden ser la expresión del aumento de actividad adrenérgica y comparables a las que presentan los pacientes durante la hipoglucemia aguda. Estas manifestaciones daban paso cuando la hipoglucemia era ya severa (\leq 30 mg/dl) a otras como hipocinesia acompañada de disminución de respuesta a los estímulos habituales del laboratorio y tendencia a apoyarse sobre la plataforma. Este fenómeno también se ha descrito en ratas despiertas en las que con glucemia inferior a 25 mg/dl se produce hiporreactividad motora con disminución de la respuesta frente a estímulos táctiles (26, 79). Estas manifestaciones podrían corresponder a los estados de obnubilación que presentan los enfermos en las fases de hipoglucemia aguda más severa. En nuestros experimentos cuando la hipoglucemia era de 20-25 mg/dl, siete cabras llegaron a caerse y una presentó crisis convulsivas coincidiendo con una glucemia de 15 mg/dl. Aunque es difícil valorar los signos focales en los animales de laboratorio, no pudimos observar otras manifestaciones neurológicas más severas o déficits focales. Es sabido que en humanos el grado de hipoglucemia no suele guardar relación directa con la severidad de los síntomas ni con su pronóstico (102). Asimismo, estudios efectuados en ratas despiertas indican que éstas permanecían conscientes a pesar de que la hipoglucemia llegó a ser de $1.5 \mu\text{mol/ml}$ (\approx 27 mg/dl) (26).

La normalización de la glucemia ocurría en todos los animales inmediatamente después de la administración intravenosa de una solución de glucosa hipertónica y los síntomas que presentaban remitían en pocos minutos. Este fenómeno puede ser también comparable al que se observa en los pacientes con hipoglucemia sintomática y son tratados con glucosa con el fin de restablecer su glucemia y aliviar sus síntomas (107).

Por tanto, la hipoglucemia desarrollada en nuestro modelo experimental presenta unas características similares a las descritas en la clínica y este modelo puede ser válido para analizar los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral y aportar bases experimentales acerca de la fisiopatología de las alteraciones cerebrovasculares secundarias a dicha anomalía. La semejanza de nuestro modelo de hipoglucemia con la clínica es un hecho de gran interés por la posible aplicación práctica de nuestros resultados.

Con respecto a los efectos cardiovasculares de la hipoglucemia, en las quince cabras consideradas conjuntamente no existía diferencia entre la presión arterial sistémica en normoglucemia y en hipoglucemia severa. Esto concuerda con lo referido previamente en ratas despiertas (26, 79), ratas anestesiadas (2) y en humanos (22, 78, 107). En estudios llevados a cabo en ratas anestesiadas y ventiladas artificialmente con N_2O/O_2 se observó incremento de la presión arterial durante la hipoglucemia y esto es atribuido al efecto del gas anestésico (136). Por otra parte, en un trabajo llevado a cabo en humanos se observó un

descenso transitorio de la presión arterial media tras la inyección de insulina y aumento de la presión diferencial durante aproximadamente media hora; al cabo de ese tiempo la presión arterial retornaba a sus valores iniciales (78). No obstante, en nuestro estudio pudimos constatar que en seis cabras la presión arterial aumentó significativamente durante la hipoglucemia moderada y coincidiendo con la situación clínica de máxima inquietud. Esto está, probablemente, relacionado con el incremento de la actividad adrenérgica que a menudo ocurre en estos casos.

La frecuencia cardíaca aumentó durante la hipoglucemia en los 15 animales y esto coincide con lo observado por otros en la clínica (78), pero no así en el laboratorio con ratas despiertas, en las que se produjo bradicardia (26). Hilsted et al.(1984) refieren que media hora después de inyectar insulina en pacientes se produce taquicardia transitoria durante unos 10 minutos (78). En nuestro caso, el incremento de la frecuencia cardíaca era ya manifiesto durante la hipoglucemia moderada y persistió durante la hipoglucemia severa. La frecuencia cardíaca permanecía aumentada, incluso tras la reposición de la glucemia. Además, pudimos constatar que cada vez que se administraba una dosis adicional de insulina para mantener baja la glucemia se producía en 5-10 minutos una taquicardia más acentuada y duraba unos 10-15 minutos. Este fenómeno puede estar relacionado con el incremento de la liberación de catecolaminas o de otras hormonas (vgr. glucagón) cada vez que se inyecta la insulina y con el efecto cardíaco cronotópico positivo de éstas.

El gasto cardíaco aumentó durante la hipoglucemia severa en las 3 cabras en las que se midió. Este incremento fué del 23%, retornando a valores controles tras la restauración de la glucemia. En humanos también se produce un aumento del gasto cardíaco debido, en un primer estadio, al aumento de la frecuencia cardíaca y, posteriormente, al aumento del volumen/sistólico (78). Estos fenómenos pueden reflejar también el efecto cronotópico e inotrópico positivos sobre el corazón de las hormonas liberadas tras la inyección de insulina y durante la hipoglucemia.

No hemos hallado variaciones del pH ni de los gases sanguíneos sistémicos durante la hipoglucemia moderada o severa, como ha sido referido también por otros investigadores (92, 93, 111, 119). Estos autores demuestran la ausencia de acidosis en la fase de precoma hipoglucémico.

Nuestros resultados muestran claramente que el flujo sanguíneo cerebral aumenta durante la hipoglucemia producida con insulina. Este efecto coincidía con la disminución de la resistencia vascular cerebral, indicando que el aumento del flujo sanguíneo cerebral producido por la hipoglucemia en la cabra sin anestesiar es debido a la vasodilatación cerebral. Estos cambios en la circulación cerebral están relacionados directamente con la disminución de glucosa en sangre puesto que la recuperación de la glucemia con glucosmón se acompañaba de una inmediata tendencia del flujo sanguíneo cerebral a normalizarse en todos los animales. Asimismo, en algunas cabras comprobamos que la

inyección de insulina directamente en la circulación cerebral no altera el flujo sanguíneo cerebral, por lo que la insulina no es la responsable directa de la vasodilatación cerebral observada durante la hipoglucemia. Otros autores también relacionan la vasodilatación cerebral que aparece durante la hipoglucemia con el déficit de sustrato energético (23, 24, 25, 26). El aumento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia también ha sido observado en otros laboratorios (2, 26, 79, 111, 112, 136) y en la clínica (107). El incremento del flujo sanguíneo cerebral en la cabra despierta se pone ya de manifiesto cuando la hipoglucemia es moderada y sigue aumentando progresivamente a medida que la glucemia va descendiendo más. El incremento de flujo sanguíneo cerebral fué del $34 \pm 4\%$ durante la hipoglucemia severa (24 ± 0.5 mg/dl) y es de destacar que dicho incremento seguía acentuándose al mantener la hipoglucemia severa durante un periodo de tiempo prolongado. Así, cuando la hipoglucemia severa se mantenía más de dos horas, el incremento del flujo sanguíneo cerebral llegó a ser del $45 \pm 5\%$. Este fenómeno puede tener relevancia para interpretar la fisiopatología del aumento del flujo sanguíneo cerebral producido por la hipoglucemia. Hollinger y Bryan (1987), sin embargo, sugieren que el aumento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia severa en ratas despiertas depende exclusivamente de la concentración plasmática de glucosa y es independiente de la dosis de insulina y del tiempo que dura la hipoglucemia (79).

La magnitud del incremento del flujo sanguíneo cerebral observado por nosotros es mayor que el hallado en voluntarios sanos

($\Delta = +17\%$) y en diabéticos ($\Delta = +21\%$) durante la hipoglucemia (107). Sin embargo, es considerablemente menor que el hallado por otros autores en ratas anestesiadas y ventiladas artificialmente, donde el incremento medio del flujo sanguíneo cerebral regional es de 200 - 300 % (2, 111, 136). Estos estudios muestran que el flujo sanguíneo aumenta en todas o en la mayoría de las regiones cerebrales estudiadas durante las fases de "precoma" y "coma" en los animales con hipoglucemia severa, si bien encuentran una gran variabilidad en las diferentes regiones cerebrales. Otros analizan el flujo sanguíneo cerebral regional en ratas despiertas y normotensas y observan que está aumentado de forma no homogénea en las diversas regiones cerebrales estudiadas. Así, por ejemplo, se ha referido un aumento que oscila entre el 38% en hipotálamo y el 138% en el tálamo (26, 79). Estos resultados y los nuestros apoyan la idea de que las alteraciones neurológicas que aparecen durante la hipoglucemia no son debidas al déficit de riego sanguíneo cerebral.

Los mecanismos por los que se produce el aumento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia no son conocidos. Se ha sugerido que el mantenimiento de la presión arterial es importante para preservar el flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia (119, 136). Estos autores observan que la hipotensión arterial durante la hipoglucemia severa es perjudicial porque se pierde la "autorregulación", y consideran que el incremento del flujo sanguíneo cerebral encontrado durante la hipoglucemia severa en ratas anestesiadas es secundario a la hipertensión arterial y a la pérdida de la "autorregulación" que aparece en estos casos (119, 136). Por otra

parte, parece ser que cuando la hipoglucemia coincide con hipotensión no todas las áreas cerebrales están expuestas igualmente al fallo de su perfusión y cabría esperar que los mayores daños neuronales ocurriesen en las zonas peor perfundidas. Sin embargo, ello no ocurre así y, por ejemplo, el giro cingular que es una de las zonas peor perfundidas en hipotensión durante la hipoglucemia no muestra marcadas necrosis neuronales (20, 136) y se sugiere que el flujo sanguíneo cerebral no es un factor crítico determinante de la necrosis neuronal durante la hipoglucemia (20). En nuestros experimentos el aumento del flujo sanguíneo cerebral observado durante la hipoglucemia no está relacionado con cambios en la presión arterial sistémica sino que se debe a la vasodilatación cerebral. En nueve cabras no se registraron alteraciones significativas de la presión arterial y en las seis restantes aumentó la presión arterial durante la hipoglucemia moderada; en ambos casos el incremento del flujo sanguíneo cerebral fué similar.

La magnitud del incremento del flujo sanguíneo cerebral en las cabras con hipoglucemia fué mayor que la magnitud del incremento del gasto cardíaco. Esto significa que aunque la hipoglucemia produce vasodilatación sistémica, la vasodilatación que produce en el lecho vascular cerebral es mayor, sugiriendo que los cambios hemodinámicos son más marcados en el cerebro que en el resto del organismo. No obstante, es probable que parte del aumento registrado en el flujo sanguíneo cerebral se deba al aumento del gasto cardíaco.

En los casos clínicos de hipoglucemia con déficits neurológicos de tipo vascular el trastorno hemodinámico cerebral parece ser de origen funcional o relacionado con patología vascular cerebral independiente de la hipoglucemia (144). De hecho, en los casos descritos en la bibliografía como ictus asociados a hipoglucemia (102) se comenta que los enfermos tenían importantes factores de riesgo vascular (hipertensión arterial, diabetes, y/o alcoholismo). En una revisión de 29 pacientes de edades comprendidas entre 17 y 73 años con hemiplegia e hipoglucemia de 17-40 mg/dl, se señala que la incidencia de alteraciones angiográficas cerebrales fue baja (tan solo en 1 de los 11 casos en los que se practicó dicha exploración) (65). En otro estudio realizado en un paciente en estado vegetativo como consecuencia de coma hipoglucémico severo y prolongado, se encontró que al cabo de 34 meses del episodio hipoglucémico el flujo sanguíneo cerebral medido con Xenon 133 estaba incrementado (7). Esto contrasta con el descenso del flujo sanguíneo cerebral que se observa en síndromes clínicos de similar apariencia pero debidos a hipoxia-isquemia.

La vasodilatación cerebral observada durante la hipoglucemia en la cabra despierta no parece ser debida a cambios sistémicos en el pH o gases sanguíneos puesto que éstos no se alteran significativamente en esa situación. Esto está en concordancia con lo sugerido por otros autores (2) y coincide con lo referido por Nilsson et al. (1981) quienes demostrando un incremento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia descartan la participación de factores metabólicos (H^+ , K^+ , adenosina) (111). Estos autores también se apoyan en otros

trabajos (92, 93, 119) que demuestran que en la fase de "precoma" hipoglucémico no existe acidosis y, por tanto, el metabolismo tisular está preservado.

Con respecto al papel de los receptores beta adrenérgicos de los vasos cerebrales en los efectos de la hipoglucemia sobre la circulación cerebral, Hollinger y Bryan (1987) observaron que el incremento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia es menor en presencia de propranolol, bloqueante beta adrenérgico, sugiriendo que la respuesta vasodilatadora cerebral está producida, en parte, por estímulo beta adrenérgico cerebrovascular (79). Estos resultados son difíciles de interpretar puesto que en los animales tratados con propranolol aumentaba la presión arterial media y para mantenerla normal producían hipovolemia. Este hecho puede alterar los resultados referidos por estos investigadores. Nosotros encontramos que el propranolol no modifica significativamente el incremento de flujo sanguíneo cerebral que tiene lugar durante la fase de hipoglucemia severa. Sin embargo, sí observamos que se retrasaba la aparición del aumento del flujo sanguíneo cerebral cuando los animales eran tratados con este beta bloqueante con respecto a cuando no recibían este tratamiento. Es posible que en la fase de hipoglucemia moderada se produzca activación beta adrenérgica en la circulación cerebral contribuyendo así al incremento del flujo sanguíneo cerebral observado en esa fase. Los efectos sistémicos del propranolol eran manifiestos porque cuando se administraba este fármaco la respuesta simpática cardiovascular (presión arterial sistémica y frecuencia cardíaca)

inducida por la hipoglucemia era menor que cuando no estaban tratados con propranolol. Lo observado en el flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia severa en los animales tratados con propranolol está de acuerdo con que el tono beta adrenérgico es cuantitativamente similar en la hipoglucemia severa y normoglucemia e indica que en esta fase de hipoglucemia no participan los receptores beta adrenérgicos en la vasodilatación cerebral.

Aunque no se observen variaciones sistémicas en el pH y gases sanguíneos arteriales, es probable que durante la hipoglucemia se produzcan alteraciones del metabolismo local cerebral y, en consecuencia, modificaciones en el medio que rodea a los vasos cerebrales. Entre estas alteraciones podrían incluirse cambios del pH y liberación de metabolitos vasodilatadores en el espacio extracelular cerebral, lo que produciría la vasodilatación cerebral observada durante la hipoglucemia. Se ha señalado que cuando la concentración de glucosa sanguínea es inferior a 2 mM/L comienza el fallo energético cerebral (19, 23, 24, 25, 26) y se produce una nueva situación metabólica con reducción de la producción de ATP. Esto conlleva el acúmulo extracelular de sustancias como ácido araquidónico (4), ácido aspártico y otros neurotransmisores (19, 129). Asimismo, se ha observado aumento de K^+ en el líquido cefalorraquídeo en pacientes hipoglucémicos durante la fase de electroencefalograma plano (16, 91). Estas sustancias, vehiculadas a través del líquido cefalorraquídeo, podrían participar también en la vasodilatación cerebral producida por la hipoglucemia (144, 152). Estos cambios metabólicos locales en el

cerebro se acentuarían cuando la hipoglucemia se prolonga en el tiempo y explicaría que el flujo sanguíneo cerebral aumente a medida que se prolonga la hipoglucemia como hemos observado nosotros. Este fenómeno permitiría una mayor formación y liberación de metabolitos cerebrales debido al déficit prolongado de sustrato energético al cerebro. La adenosina es un potente vasodilatador cerebral y ha sido propuesta como posible causa del aumento del flujo sanguíneo cerebral producido por la hipoglucemia, ya que aparece incrementada en el plasma cuando la glucemia disminuye y el flujo sanguíneo cerebral comienza a aumentar (26, 154). Esta sustancia podría participar en el aumento del flujo sanguíneo cerebral que aparece ya en la hipoglucemia moderada (30 - 50 mg/dl) en la cabra sin anestesiarse.

En nuestros experimentos la inyección de glucosmón producía normalización inmediata de la glucemia, pero la tendencia del flujo sanguíneo cerebral a normalizarse era más lenta. Esto apoya que la vasodilatación cerebral observada durante la hipoglucemia está relacionada con el déficit de sustrato energético y probablemente la recuperación total del flujo sanguíneo cerebral requiere más tiempo hasta que se normaliza el metabolismo y el medio extracelular cerebrales. Merece destacarse lo observado en ratas de que al cabo de 15-90 minutos tras la reposición de la glucemia se instaura una marcada hipoperfusión cerebral con descenso del flujo sanguíneo cerebral secundario al incremento de la resistencia vascular cerebral (2, 135). Esto es interesante porque si en esta fase de hipoperfusión se produjera un incremento de la glucemia se provocaría daño cerebral, ya que al

metabolizarse la glucosa por vía anaerobia se desencadenaría aumento de ácido láctico y, como consecuencia, incremento de radicales libres, favoreciendo la necrosis neuronal. Por ello, se ha planteado la hipótesis de que la corrección excesivamente rápida de la glucemia puede inducir acidosis local y si existe además hipoperfusión cerebral, favorecer el daño neuronal (144).

En la vasodilatación cerebral durante la hipoglucemia también podría estar implicado el déficit energético de la propia pared vascular produciendo "debilitamiento" de la capacidad contráctil de su musculatura lisa y como consecuencia disminución del tono vascular cerebral. En este sentido, estudios in vitro en diversas arterias y venas de conejo y perro indican que la hipoxia y/o la deplección de glucosa del medio reducen la respuesta vascular (12, 142). Sin embargo, otros autores estudiando los efectos de la privación de glucosa en tiras de arteria cerebral media bovina no encuentran alteración en la respuesta contráctil frente a serotonina, mientras que la eliminación de oxígeno del medio sí que reduce esa respuesta (145). Nosotros hemos estudiado en arterias cerebrales aisladas de cabra los efectos de la noradrenalina y del CIK en un medio sin glucosa y tampoco hemos observado ninguna alteración de la respuesta contráctil. (Estos resultados no se han presentado en este trabajo por estar en fase de estudio para poder confirmarlo). Así, pues, el debilitamiento de la capacidad contráctil de la pared vascular por déficit energético aislado parece ser poco probable.

Nuestros resultados obtenidos en la respuesta vascular in vivo ante estímulos vasoconstrictores y vasodilatadores indican que los vasos

sanguíneos cerebrales tienen poca capacidad para contraerse y dilatarse durante la hipoglucemia severa. Esto, al igual que la vasodilatación cerebral, podría estar relacionado con la alteración del medio que baña los vasos cerebrales. En nuestro estudio hemos observado que la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora cerebral está claramente disminuída durante la hipoglucemia. Este fenómeno parece ser inespecífico puesto que afecta a estímulos vasoconstrictores (noradrenalina, tiramina, serotonina) con mecanismos de acción diferentes y también a estímulos vasodilatadores (CO_2 , acetilcolina, isoproterenol, diazóxido) que actúan también a través de mecanismos distintos. Esta inespecificidad apoya la hipótesis anteriormente propuesta de que una modificación del medio extracelular produciría vasodilatación cerebral y disminución de la capacidad funcional cerebrovascular por alteración de la interacción estímulo-receptor-proceso contráctil o relajador de las células del músculo liso vascular. La presencia de un cambio del pH extracelular local podría explicar a la vez la vasodilatación cerebral, el debilitamiento del proceso contráctil y la alteración de la interacción estímulo-receptor vascular. A este respecto, es conocido que la acidosis disminuye la respuesta vascular cerebral y de otros lechos vasculares a estímulos adrenérgicos y no adrenérgicos (17, 28, 50, 52, 100, 116, 146) debido a la alteración de la maquinaria contráctil vascular y de la interacción fármaco-receptor (17, 50). Estos mismos mecanismos podrían llevar también a la disminución del tono simpático y a la vasodilatación cerebral durante la hipoglucemia. Aunque la actividad adrenérgica en la circulación

cerebral durante la hipoglucemia en la cabra sin anestesiar resultó ser similar cuantitativamente a la observada en condiciones normales (los efectos producidos por la fentolamina y propranolol sobre el flujo sanguíneo durante la hipoglucemia fueron comparables a los obtenidos durante la normoglucemia), este hecho debe interpretarse como una disminución relativa de esta capacidad durante la hipoglucemia. Como durante la hipoglucemia se produce aumento de la actividad simpática general (taquicardia, a veces hipertensión arterial, inquietud, etc.) este fenómeno debería manifestarse también en la circulación cerebral. Por ello, el hecho de que el tono simpático cerebrovascular durante la hipoglucemia sea similar al que existe en condiciones normales indica realmente que ese tono está relativamente disminuido en el lecho vascular cerebral pues debería estar aumentado de estar preservada la capacidad funcional de los vasos cerebrales y la interacción sistema nervioso simpático - vasos cerebrales. Por tanto, es probable que tanto el aumento de la perfusión cerebral como la disminución de la respuesta cerebrovascular que tienen lugar durante la hipoglucemia sean expresión, fundamentalmente, de la disminución de la capacidad de los vasos cerebrales para regular el aporte sanguíneo al cerebro. Esta disminución estaría producida por la alteración del medio que rodea los vasos cerebrales como consecuencia de los cambios metabólicos secundarios al déficit de glucosa. La alteración del medio extracelular cerebral llevaría a la relativa parálisis de los vasos sanguíneos cerebrales con la consiguiente disminución del tono vascular y de la respuesta a los diferentes estímulos vasoactivos.

El estudio de la respuesta vascular cerebral durante la hipoglucemia ha recibido hasta el presente muy poca atención. Nilsson et al. (1981) observan en ratas que la hipoglucemia no altera los efectos del CO₂ sobre el flujo sanguíneo cerebral (111). Sin embargo, su procedimiento experimental es distinto al nuestro ya que usan anestesia y la duración de la inhalación del anhídrido carbónico es más breve (aproximadamente 30 segundos). Sieber et al. (1989) midiendo el flujo sanguíneo cerebral mediante microesferas en perros anestesiados refieren que la inhalación de CO₂ al 5% durante 10 minutos produce una vasodilatación cerebral similar en normo e hipoglucemia severa, pero sí que encuentran una disminución de la respuesta vasoconstrictora inducida por hipocapnia durante la hipoglucemia (134). Otros investigadores tampoco encuentran cambios en la respuesta vasodilatadora cerebral producida por anhídrido carbónico durante la hipoglucemia (34, 37). Nosotros pudimos constatar en todos los animales una menor respuesta vasodilatadora a la inhalación del CO₂ durante la hipoglucemia en comparación con la normoglucemia, aunque la respuesta no estaba totalmente abolida.

Bryan et al. (1987) refieren en ratas despiertas con hipoglucemia un incremento del flujo sanguíneo en todas las regiones cerebrales estudiadas, excepto en la neurohipófisis, en la que hallan un descenso del flujo sanguíneo (26). Este hecho lo relacionan con que esta estructura carece de barrera hematoencefálica y las catecolaminas producirían vasoconstricción en la neurohipófisis y no en las demás estructuras cerebrales. A pesar de que con su hipótesis intentan explicar

la reducción del flujo sanguíneo cerebral en la neurohipófisis, no encuentran una respuesta concluyente para explicar el incremento del flujo sanguíneo cerebral regional en las restantes zonas cerebrales. Estos autores apuntan la posibilidad de que este incremento sea un intento de mantener el aporte de glucosa al cerebro cuando la glucemia desciende por debajo de un nivel crítico ($2-2.5 \mu\text{mol/ml} = 36 - 45 \text{ mg/dl}$).

El estudio de los mecanismos que subyacen en la vasodilatación cerebral producida por la hipoglucemia está todavía muy incompleto y es necesario proseguirlo para esclarecer la hipótesis planteada en este trabajo. La determinación de los posibles cambios metabólicos y de la composición del medio extracelular cerebral sería, probablemente, de fundamental importancia para ello.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

El presente trabajo se ha hecho con la idea de contribuir al conocimiento de la fisiopatología de las alteraciones cerebrovasculares producidas por la hipoglucemia. Para ello se han estudiado los efectos de la hipoglucemia inducida con insulina sobre el flujo sanguíneo cerebral y sobre la capacidad funcional de los vasos sanguíneos cerebrales. Esto se ha llevado a cabo en un modelo experimental en la cabra sin anestesiarse que permite medir el flujo sanguíneo cerebral de forma continua, latido a latido, en condiciones próximas a las naturales. Asimismo, este modelo permite inyectar sustancias vasoactivas en dosis pequeñas directamente en la circulación cerebral y registrar sus efectos selectivos en este lecho vascular.

Estudios realizados:

1.- Inducción de hipoglucemia mediante inyección intravenosa de insulina, análisis de las alteraciones clínicas y registro de los efectos sobre la hemodinámica cerebral y sistémica (presión arterial, frecuencia cardíaca y gasto cardíaco).

2.- Papel de los receptores beta adrenérgicos de los vasos cerebrales en los efectos de la hipoglucemia sobre la hemodinámica cerebral.

3.- Efectos de la hipoglucemia sobre la actividad alfa y beta adrenérgica de los vasos cerebrales.

4.- Efectos de la hipoglucemia sobre la capacidad de respuesta cerebrovascular a estímulos vasoconstrictores (noradrenalina, tiramina y serotonina) bien caracterizados, y

5.- Efectos de la hipoglucemia sobre la capacidad de respuesta cerebrovascular a estímulos vasodilatadores (CO_2 , isoproterenol, acetilcolina y diazóxido) igualmente bien caracterizados.

Resultados:

1.- La inyección de insulina produce hipoglucemia en la cabra sin anestesiar y ésta se acompaña cuando es moderada (46 ± 0.5 mg/dl) de intranquilidad, piloerección, rumia y temblor, y cuando es severa (< 30 mg/dl) de hipocinesia, caída y convulsiones.

2.- La hipoglucemia se acompaña también de aumento progresivo del flujo sanguíneo cerebral y disminución de la resistencia vascular cerebral de forma paralela a la disminución de la glucemia. Asimismo, produce taquicardia y aumento del gasto cardíaco, sin cambios en los gases sanguíneos. Cuando la hipoglucemia es moderada, pero no severa, también existe hipertensión arterial en casi la mitad de los animales.

3.- El bloqueo de los receptores beta adrenérgicos de los vasos cerebrales retrasa el comienzo del aumento del flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia moderada, aunque este aumento en la hipoglucemia severa es igual en los animales tratados o no con propranolol.

4.- Los efectos de la fentolamina y del propranolol sobre el flujo sanguíneo cerebral durante la hipoglucemia severa fueron similares a los obtenidos en normoglucemia.

5.- La noradrenalina, tiramina o serotonina disminuyó el flujo sanguíneo cerebral, pero sus efectos fueron significativamente menores durante la hipoglucemia severa.

6.- El CO₂, acetilcolina, isoproterenol o diazóxido aumentó el flujo sanguíneo cerebral, pero estos efectos estaban significativamente reducidos durante la hipoglucemia severa.

Conclusiones:

1.- La inyección de insulina en la cabra sin anestesiarse permite reproducir en el laboratorio un modelo de hipoglucemia que remeda, en líneas generales, lo que ocurre en la clínica.

2.- La hipoglucemia produce vasodilatación cerebral y disminuye de forma inespecífica la capacidad vasoconstrictora y vasodilatadora del lecho cerebrovascular. Ambos efectos son debidos, probablemente, a la alteración del medio que rodea los vasos sanguíneos cerebrales como consecuencia de las anomalías metabólicas del tejido cerebral por déficit de sustrato energético (glucosa). La alteración del medio extracelular cerebral llevaría a la "parálisis" de los vasos sanguíneos cerebrales y a la disminución de su capacidad reguladora del aporte sanguíneo al cerebro.

Los receptores beta-adrenérgicos cerebrovasculares no parecen estar implicados en la vasodilatación cerebral producida por la hipoglucemia severa.

3.- Las alteraciones neurológicas producidas por la hipoglucemia no están causadas por déficit de aporte sanguíneo al cerebro sino, probablemente, por déficit de aporte energético al tejido nervioso. Esto llevaría a la alteración del proceso metabólico neuronal y desencadenaría las alteraciones clínicas y hemodinámicas cerebrales que se observan en esta entidad, y

4.- El presente modelo experimental de hipoglucemia y de medición del flujo sanguíneo cerebral puede ser válido y útil para estudiar la fisiopatología de las alteraciones de la circulación cerebral secundarias a esta anomalía. En este sentido, son necesarios más estudios dirigidos al conocimiento del proceso metabólico y del medio extracelular cerebral y sus posibles alteraciones durante la hipoglucemia.

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

BIBLIOGRAFIA

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

ANDERSON, K.F., 1971

Regulation dynamics in

Regulation dynamics in

- 1.- AASLID R.; LINDENGAARD K.F.; SORTEBERG W.; NORNES H.
"Cerebral autorregulation dynamics in humans". *Stroke*, 20: 45-52;
1989.
- 2.- ABDUL-RAHMAN A., AGARDH C.D., SIESJÖ B.K. "Local cerebral
blood flow in the rat during severe hypoglycemia and in the recovery
period following glucose injection". *Acta Physiol. Scand.*, 109:307-
314; 1980.
- 3.- AGARDH C.D., KALIMO M., OLSSON Y.; SIESJÖ B.K. "
Hypoglycaemic brain injury". *Acta Neuropathol.*, 50:31-41, 1980.
- 4.- AGARDH C.D.; WESTERBERG E.; SIESJÖ B.K. "Severe
hypoglycemia leads to accumulation of arachidonic acid in brain
tissue". *Acta Physiol.Scand.*, 109: 115-116; 1980.
- 5.- AGARDH C.D.; CHAPMAN A.G.; NILSSON B.; SIESJÖ B.K.
"Endogenous substrates utilized by rat brain in severe insulin-induced
hypoglycemia." *J.Neurochem.*; 36: 490-500; 1981.
- 6.- AGARDH C.D.; CHAPMAN A.G.; PELLIGRINO D.; SIESJÖ B.K.
"Influence of severe hypoglycemia on mitochondrial and plasma
membrane function in rat brain". *J.Neurochem.*,38: 662-668; 1982.
- 7.- AGARDH C.D., ROSEN I., RYDING E. "Persistent vegetative state with
high cerebral blood flow following profound hypoglycemia". *Ann.
Neurol.*, 14:482-486, 1983.
- 8.- ALBORCH E.; GOMEZ B.; DIEGUEZ G.; MARIN JC; LLUCH
S.: "Cerebral blood flow and vascular reactivity after removal of the
superior cervical sympathetic ganglion in the goat". *Circ.Res.*, 41: 278-
282; 1977.
- 9.- ALBORCH.E. : "Cholinergic receptors in the cerebral arteries of the
goat". In: Cervós-Navarro J.; Fritschka E. (Eds.). *Cerebral
microcirculation and metabolism*. Raven Press, New York, 1981, pp:
285-291.
- 10 - ALBORCH E.; LLUCH S.: "Sympathetic activity in the cerebral
vessels". In: Seylaz J. and Sercombe R. (eds.); *Neurotransmission*

and cerebrovascular function II Elsevier Science Publishers B.V., NY, Boston, Excerpta Medica, 1989, pp.: 117-1321.

- 11.- ALLEN S.G.; HENDERSON L.M.; CHOU S.N.; FRENCH L.A.:
"Cerebral arterial spasm. Part 2: In vitro contractile activity of serotonin in human serum and CSF on the canine basilar artery, and its blockage by methysergide and phenoxybenzamine". J.Neurosurg., 40: 442-250; 1974.
- 12.- ALTURA B.M.; ALTURA B.T. "Differential effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta". Am.J.Physiol., 219: 1698-1708; 1970.
- 13.- ANDERSON J.M.; MILNER R.D.G.; STRICH S.J. "Effects of neonatal hypoglycemia on the nervous system: a pathological study". J.Neurol.Neurosurg.Psychiatr., 30: 295-310, 1967.
- 14.- ANDERSSON B.; JEWELL P.A. "The distribution of carotid and vertebral blood in the brain and spinal cord of the goat". J.Expe.Physiol.; 41: 462-474, 1956.
- 15.- ASK-UPMARK E. "The carotid sinus and the cerebral circulation. An anatomical, experimental and clinical investigation, including some observations on rete mirabile caroticum". Acta Psychtr.Neurol. Scand, Suppl. 6: 1-374, 1935.
- 16.- ASTRUP J.; NORBERG K. "Potassium activity in cerebral cortex in rats during progressive severe hypoglycemia". Brain Res., 103 : 418-423, 1976.
- 17.- ATKINSON J.M.; RAND J.: Reduction of cardiovascular responses to some sympathomimetic amines during hypercapnia". Eur.Pharmacol.; 18: 166-173; 1972.
- 18.- AUER R.N.; WIELOCH T.; OLSSON Y.; SIESJO B.K. "The distribution of hypoglycemic brain damage". Acta Neuropathol., 64:177-191, 1984.
- 19.- AUER R.N.; HALL P.; INGVAR M.; SIESJO B.K. "Hypotension as complication of hypoglycemia leads to enhanced energy failure but no increase in neuronal necrosis".Stroke, 17: 442-450, 1986.

- 20.- AUER R.N. "Progress Review: Hypoglycemic brain damage". *Stroke*, 17(4): 699-708, 1986.
- 21.- BANKER B.Q. "The neuropathological effects of anoxia and hypoglycemia in the newborn". *Dev.Med.Child Neurol.*, 9:544-550, 1967.
- 22.- BROWN R.T. ; POLINSKY R.J.; LEE G.K. "Insulin-induced hypoglycemia and neurogenic orthostatic hypotension". *Neurology*, 36(10): 1402-1406, 1986.
- 23.- BRYAN R.M.; JOBSIS F.F. "The cerebral redox state in cats during severe insulin-induced hypoglycemia". *Brain Res.*, 279: 266-270; 1983.
- 24.- BRYAN R.M.; KEEFER K.A.; Mac NEILL C. "Regional cerebral glucose utilization during insulin-induced hypoglycemia in unanesthetized rats". *J.Neurochem.*, 46(6): 1904-1911, 1986.
- 25.- BRYAN R.M.; JOBSIS F.F. "Insufficient supply of reducing equivalents to the respiratory chain in cerebral cortex during severe insulin-induced hypoglycemia in cats". *J.Cereb. Blood Flow Metab.*, 6: 286-291; 1986.
- 26.- BRYAN R.M.Jr.; HOLLINGER B.R.; KEEFER K.A.; PAGE R.B. "Regional cerebral and neural lobe blood flow during insulin-induced hypoglycemia in unanesthetized rats". *J.Cereb.Blood Flow Metab.*, 7: 96-102, 1987.
- 27.- BUTCHER S.P.; SANDBERG M.; HAGBERG H.; HAMBERGER A. "Cellular origins of endogenous amino acids released into the extracellular fluid of the rat striatum during severe insulin-induced hypoglycemia". *J.Neurochem.*, 48(3): 722-728, 1987.
- 28.- BYGDEMAN S.: "Vascular reactivity in cats during induced changes in the acid-base balance of the blood". *Acta Physiol.Scand.*; 61: Suppl. 222: 1-66; 1963.
- 29.- CAPABLO J.L.; TORDESILLAS C.; AGUIRRE M.; ELCANO J.; MARTIN J.; RODRIGUEZ T. "Hipoglucemia como causa de síntomas neurológicos focales". *Neurología (Esp.)*, 3(Supl.1): 66-67, 1988.

- 30.- CASE RECORDS OF THE MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL. New Engl.J.Med., 318(23): 1523-1532,1988.
- 31.- CLARK S.L.: "Innervation of the choroid plexusses and the blood vessels within the central nervous system". J.Neurol., 60: 21-35; 1934.
- 32.- CERVOS-NAVARRO J.; MATAKAS F. "Electron microscopic evidence for innervation of intracerebral arterioles in the cat". Neurology; 24: 282-286, 1984.
- 33.- CHANNA A.B. ; MOFTI A.B.; TAYLOR G.W.; MEKKI M.O.; SHEIKH M.H. "Hypoglycaemic encephalopathy following surgery on phaeochromocytoma". Anesthesia, 42(12): 1298-1301, 1987.
- 34.- CILLUFFO J.M.; ANDERSON R.E.; MICHENFELDER J.D.; SUNDT T.M. "Cerebral blood flow, brain pH and oxidative metabolism in the cat during severe insulin-induced hypoglycemia". J.Cereb.Blood Flow Metab., 2 :337-346; 1982.
- 35.- CONDE M.V.; MARIN J.; SALAICES M.; MARCO E.; GOMEZ B.; LLUCH S. "Adrenergic vasoconstriction of the goat middle cerebral artery". Amer.J.Physiol.; 235: H131-H135, 1978.
- 36.- CUNEO R.C.; LIVESEY J.H.; NICHOLLS M.G.; ESPINER E.A.; DONALD R.A. "Effects of alpha-1 adrenergic blockade on the hormonal response to hypoglycaemic stress in normal man". Clin.Endocrinol., 26: 1-8, 1987.
- 37.- DAHLGREN N.; INGVAR M.; SIESJO B.K. "Effect of propranolol on local cerebral blood flow under normocapnic and hypercapnic conditions". J.Cereb.Blood Flow Metab., 1: 429-436, 1981.
- 38.- D'ALECY L.G.; FEIGL E.O. "Sympathetic control of cerebral blood flow in dogs". Circ. Res., 31:267-283; 1972.
- 39.- DANIEL P.M.; DAWES J.D.K.; PRITCHARD M.M.L. " Studies of the carotid rete and its associated arteries". Philos. Trans. R.Soc.- London Ser, B 237: 173-208, 1953.

- 40.- DELLA PORTA P.; MAIOLO A.T.; NEGRI V.U.; ROSELLA E.
"Cerebral blood flow and metabolism in therapeutic insulin coma".
Metabolism, 13: 131-140; 1964.
- 41.- DENN M.J.; STONE H.L. "Cholinergic innervation of monkey
cerebral vessels". Brain Res., 113: 394-399; 1976.
- 42.- DIEGUEZ G.; HERNANDEZ J.; GOMEZ B.; LLUCH S.: "Cerebral
blood flow during hypertension induced by norepinephrine,
epinephrine and angiotensine II". In: Bes A. and Geraud G. (Eds.).
Circulation cerebrale. Tolouse, 1979, pp. 39-41.
- 43.- DIEGUEZ G.; GOMEZ B.; LLUCH S.: "Analysis of cerebrovascular
action of diazoxide in conscious goats". Stroke, vol. 11, nº4: 372-376;
1980.
- 44.- DIEGUEZ G.; GOMEZ B.; LLUCH S. "Analysis of the cerebrovascular
effects of 5-hydroxytryptamine in unanesthetized goats".
J.Pharmacol.Exp.Ther.; 216: 599-603, 1981.
- 45.- DIEGUEZ G.; CONDE M.V.; GOMEZ B.; IGLESIAS J.R.; MARIN J.;
LLUCH S. "Rete mirabile of goat: in vitro effects of adrenergic
stimulation". Brain Res, 289: 281-284, 1983.
- 46.- DIEGUEZ G.; GARCIA A.L.; CONDE M.V.; GOMEZ B.; SANTAMARIA
L.; LLUCH S. " In vitro studies of the carotid rete mirabile of
artiodactyla". Microvascular Res., 33: 143-154, 1987.
- 47.- DIEGUEZ G.; GARCIA-VILLALON A.L.; GOMEZ B.; LLUCH S.
"Hemodynamic significance of the carotid rete during changes in
arterial blood pressure". Am.J.Physiol., 254 (Regulatory Integrative
Comp. Physiol. 23): R770-R775, 1988.
- 48.- DIEZ TEJEDOR E. "Arterias cerebrales humanas: Respuesta "in
vitro" a estímulos aminérgicos y peptidérgicos". Tesis Doctoral.
Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid,
1987.
- 49.- DUFFY T.E.; PLUM F. "Seizures, coma and major metabolic
encephalopathies". In: Albers R.W.; Siegel G.J.; Katzman R.; Agranoff

- B.W. (eds.). Basic Neurochemistry. Boston. Little Brown; 693-718, 1981.
- 50.- DUSTING G.J.; RAND M.J.: "Interactions between the hydrogen ion concentration and vasoconstrictor responses to catecholamines and sympathetic nerve stimulation". Clin.Exp.Pharmacol.Physiol., Suppl. 2: 43-48; 1975.
- 51.- EDITORIAL. "Hypoglycaemia and the Nervous System". Lancet, Oct,5: 759-760 ; 1985.
- 52.- EDVINSSON L.; SERCOMBE R.: "Influence of pH and pCO₂ on alpha-receptor mediated contraction in brain vessels". Acta Physiol.Scand., 97: 325-331; 1976.
- 53.- EDVINSSON L.; MAC KENZIE E.T. "Amine mechanisms in the cerebral circulation". Pharmacol.Rev. The Williams & Wilkins Co., U.S.A., Vol.28 N°4; 275-353; 1977.
- 54.- EDVINSSON L.; HARDEBO J.E. "Receptors for 5-hydroxytryptamine in intracranial and extracranial arteries of cat and man". En: Green E. (Ed.) Current concepts in migraine research. Raven Press, New York: 141-147; 1978.
- 55.- EDVINSSON L.; HARDEBO J.E. "Characterization of serotonin receptors in intracranial and extracranial vessels". Acta Physiol.Scand., 97: 523-525; 1976.
- 56.- EISENBERG S.; SELTZER H.S. "The cerebral metabolic effects of acutely induced hypoglycemia in human subjects". Metabolism, 11:1162-1168; 1962.
- 57.- ENGELSEN B.; WESTERBERG E.; FONNUM F.; WIELOCH T. "Effect of insulin-induced hypoglycemia on the concentrations of glutamate and related amino acids and energy metabolites in the intact and decorticated rat neostriatum". J.Neurochem., 47(5): 1634-1641, 1986.
- 58.- ERNSTENE A.C.; ALTSCHULE M.D. "The effect of insulin hypoglycemia on the circulation". J.Clin.Invest., 10: 521-528, 1931.
- 59.- FALK B.; NIELSEN K.C.; OWMAN C.: "Adrenergic innervation of the pial circulation". Scand.J.Clin.Labo.Invest. Suppl. 102: 96-98; 1968.

- 60.- FANG H.C.H.: "Cerebral arterial innervation in man". Arch.Neurol. Chicago, 4: 651-656; 1961.
- 61.- FERRENDELLI J.A. ; CHIANG M.M. "Brain metabolism during hypoglycemia". Arch. Neurobiol., 28: 173-178, 1973.
- 62.- FISH H.R.; CHERNOW B.; O'BRIAN J.T. "Endocrine and neurophysiologic responses of the pituitary to insulin-induced hypoglycemia: A review". Metabolism, 35(8): 763-780, 1986.
- 63.- FISHER B.M.; BAYLIS P.H.; FRIER B.M. "Plasma oxytocin , arginine vasopressin and atrial natriuretic peptide responses to insulin-induced hypoglycemia in man". Clin. Endocrin., 26: 179-185, 1987.
- 64.- FISHER B.M.; FRIER B.M. "Nocturnal convulsions and insulin-induced hypoglycemia in diabetic patients". Postgrad.Med.J., 63, (742): 673-676, 1987.
- 65.- FOSTER J.W.; HART R.G. "Hypoglycaemic hemiplegie: two cases and a clinical review". Stroke, 18: 944-946, 1987.
- 66.- GARDINER R.M. "The effects of hypoglycemia on cerebral blod flow and metabolism in the new-born calf". J.Physiol., 298: 37-51; 1980.
- 67.- GHAJAR J.B.G.; PLUM F.; DUFFY T.E. "Cerebral oxidative metabolism and blood flow during acute hypoglycemia and recovery in unanesthetized rats". J.Neurochem.,38: 397-409; 1982.
- 68.- GHAJAR J.B.G.; GIBSON G.E.; DUFFY T.E. "Regional acetylcholine metabolism in brain during acute hypoglycemia and recovery". J.Neurochem., 44: 94-98, 1985.
- 69.- GOMEZ B.; ALBORCH E.; DIEGUEZ G.; LLUCH S.: "Presence of alpha- and beta-adrenergic tone in the walls of cerebral blood vessels". In: Cervós-Navarro J.; Betz E.; Matakas F. and Willenwebwe R. (Eds). The cerebral vessel wall. Raven Press, New York, 1976: 139-142.
- 70.- GOMEZ B.; VALLEJO R.; ALBORCH E.; DIEGUEZ G.; LLUCH S.: "Cerebral blood flow during hemorrhagic hypotension in the

- unanesthetized goat". *Am.J.Physiol.*, 232 (4): H368-H372, 1977 or *Am J.Physiol: Heart Circ.Physiol.*, 1(4): H368-H372; 1977.
- 71.- GORELL J.M.; DOLKHART P.H.; FERRENDELLI J.A. "Regional levels of glucose, amino acids, high energy phosphates and cyclic nucleotides in the central nervous system during hypoglucemic stupor and behavioral recovery". *J.Neurochem.*, 27: 1043-1049, 1976.
- 72.- GONZALEZ M.C.; LOPEZ DE PABLO A.L.; DIEGUEZ G.; GOMEZ B.; LLUCH S. "Cerebrovascular response to CO₂ inhalation in unanesthetized goat". *Proc.Soc.Exp.Biol. and Med.*; 160: 118-122, 1979.
- 73.- HAMEL E.; ESTRADA C. "Cholinergic innervation of pial and intracerebral blood vessels: evidence, possible origins and sites of action". In: Seylaz J. and Sercombe R. (Eds.). *Neurotransmission and cerebrovascular function II*. Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), Excerpta Medica, Amsterdam: 151-174; 1989.
- 74.- HARRIS S. "Hyperinsulinism and dysinsulinism". *J.A.M.A.*; 83: 729-733, 1924.
- 75.- HELLMANN J.; VANNUCCI R.C.; NARDIS E.E. "Blood-brain barrier permeability to lactic acid in the newborn dog: lactate as a cerebral metabolic fuel". *Pediatr.Res.*, 16: 40-44, 1982.
- 76.- HERNANDEZ M.J.; VANNUCCI R.C.; SALCEDO A.; BRENNAN R.W. "Cerebral blood flow and metabolism during hypoglycemia in newborn dogs". *J.Neurochem.*, 35: 622-628; 1980.
- 77.- HERNANDEZ-PEREZ M.J.; STONE H.L. "Sympathetic innervation of the circle of Willis in the macaque monkey". *Brain Res.*, 80: 507-511; 1974.
- 78.- HILSTED J.; BONDE-PETERSEN F.; NOORGAARD M.-B.; GRENNIMAN M.; CHRISTENSEN N.J.; PARVING H.H.; SUZUKI M. "Haemodynamic changes in insulin-induced hypoglucemia in normal man". *Diabetologia*, 26: 328-332, 1984.

- 79.- HOLLINGER B.R.; BRYAN R.M. "Beta-receptor-mediated increase in cerebral blood flow during hypoglycemia". *Am.Physiol. (Heart Circ.Physiol. 22): H949-H955, 1987.*
- 80.- IPP E.; FORSTER B. "Sparing of cognitive function in mild hypoglycemia dissociation from the neuroendocrine response". *J.Clin.Endocrin.Metab., 65(4): 806-810, 1987.*
- 81.- IWAI A.; SAKAMOTO T.; KINOSHITA Y.; YOKOTA J. ; YOSHIOKA T.; SUGIMOTO T. "Computed tomographic imaging of the brain in after hypoglycemia coma". *Neuroradiology, 29(4): 398-400, 1987.*
- 82.- JONES E.L.; SMITH W.T. "Hypoglycemic brain damage in the neonatal rat". In: Brierley J.B.; Meldrum B.S. (eds.); *Brain Hypoxia.* William Heinemann Medical Book Ltd. London. Ch.23, pp 231-241, 1971.
- 83.- KALIMO H.; AGARDH C.D.; OLSSON Y.; SIESJÖ B.K. "Hypoglycemic brain injury" *Acta Neuropathol. (Berlin), 50: 43-52, 1980.*
- 84.- KALIMO H.; OLSSON Y. "Effects of severe hypoglycemia on the human brain: neuropathological case reports". *Acta Neurol.Scand., 62: 345-356, 1980.*
- 85.- KAWAMURA Y.; MEYER J.S.; HIROMOTO H.; AOYAGI M.; TAGASHIRA Y.; OTT E.O. "Neurogenic control of cerebral blood flow in the baboon. Cholinergic inhibitory agent, atropine on cerebral autorregulation and vasomotor reactivity to changes in paCO_2 ". *J.Neurosurg., 43: 676-688; 1975.*
- 86 - KETY S.S.; POLIS B.D.; NADLER C.S.; SCHMIDT C.F. "The blood flow and oxygen consumption of the human brain in diabetic acidosis and coma". *J.Clin.Invest., 27: 500-510; 1948.*
- 87.- KETY S.S.; WOODFORD R.B.; HARMEL M.H.; FREYHAN F.A.; APPEL K.E.; SCHMIDT C.F. "Cerebral blood flow and metabolism in schizophrenia:The effects of barbiturate seminarcois, insulin coma and electroshock". *Am.J.Psychiatry, 104: 765-769; 1948.*

- 88.- KETY S.S.; SCHMIDT C.F.: "The effect of altered arterial tensions of carbon dioxide on cerebral blood flow and cerebral oxygen consumption of normal young men". J.Clin.Invest., 27:484-492; 1948
- 89.- LARNER J. "Insulina y drogas hipoglucemiantes orales; glucagón". En: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman A., Gilman L.G. et al. (Eds.). 7ª Edición. Cap.64. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid, pp.1412-1436, 1986.
- 90.- LASSOFF S.; ALTURA B.M. "Do pial terminal arterioles respond to local perivascular application of the neurohypophyseal peptide hormones vasopressin and oxytocin" Brain Res.; 196: 266-269; 1980.
- 91.- LENINGER-FOLLERT E.; GRONCZEWSKI J. "Extracellular K⁺ and H⁺ activities as important factors for the increase in microcirculation and tissue PO₂ in the brain cortex of cats during severe hypoglycemia". J. Cereb.Blood Flow Metab.; 3,Suppl. 1: S660-S661; 1983.
- 92.- LEWIS L.D.; LJUNGGREN B.; RATCHESON R.A.; SIESJÖ B.K. "Cerebral energy state in insulin-induced hypoglycemia, related to blood glucose and to EEG". J.Neurochem., 23: 673-679; 1974 (a).
- 93.- LEWIS L.D.; LJUNGGREN B.; NORBERG K.; SIESJÖ B.K. "Changes in carbohydrate substrates, aminoacids and ammonia in the brain during insulin-induced hypoglycemia". J.Neurochem., 23: 659-671; 1974 (b).
- 94.- LINDEN T.; KALIMO H.; WIELOCH T. "Protective effect of lesion to the glutamatergic cortico-striatal projections on the hypoglycemic nerve cell injury in rat striatum". Acta Neuropathol. (Berlin), 74(4): P335-P344, 1987.
- 95.- LLUCH S.; REIMANN C.; GLICK G. "Evidence for the direct effect of adrenergic drugs on the cerebral vascular bed of the unanesthetized goat". Stroke; 4: 50-56; 1973.
- 96.- LLUCH S.; GOMEZ B.; ALBORCH E.; URQUILLA P.R. "Adrenergic mechanisms in cerebral circulation on the goat". Am.J.Physiol.; 228: 985-989, 1975.

- 97.- LLUCH S.; VALLEJO A.R.; DIEGUEZ B.; GOMEZ B.: "Adrenergic involvement in cerebral blood flow: changes in controlled hypotension". *Adv.in Neurol.*, vol.20; Cervós-Navarro J. (Ed.); Raven Press, New York, 1978: 215-221.
- 98.- LLUCH S.; CONDE M.V.; DIEGUEZ G.; LOPEZ DE PABLO A.L.; GONZALEZ M.C.; ESTRADA C.; GOMEZ B. "Evidence for the direct effect of vasopressin on human and goat cerebral arteries". *J.Pharmacol.Exp.Ther.*, 228: 749-755; 1984.
- 99.- LLUCH S.; DIEGUEZ G.; GARCIA A.L.; GOMEZ B. "Rete mirabile of the goat: its flow-damping effect on cerebral circulation". *Amer.J.Physiol.*, 249: R482-R489, 1985.
- 100.- LOPEZ DE PABLO A.L.; GONZALEZ M.C.; DIEGUEZ G.; GOMEZ B.; LLUCH S.: "Reduction of cerebrovascular reactivity during hypercapnia". *Am.J.Physiol.*, 242: R441-R446; 1982 (a).
- 101.- LOPEZ DE PABLO A.L.; GONZALEZ M.C.; DIEGUEZ G.; GOMEZ B.; LLUCH S.: "Cerebrovascular responses to CO₂ after inhibition of sympathetic activity". *J.Appl.Physiol.: Respirat.Envirom.Excersise Physiol.*, 53(4): 873-878; 1982 (b).
- 102.- MALOUF R.; BRUST J.C.M. "Hypoglycemia: Causes, neurological manifestations and outcome". *Ann.Neurol.*, 17: 421-430, 1985.
- 103.- Mc DONALD J.T.; BROWN D.R. "Acute hemiparesis in juvenile insulin-dependent diabetes mellitus (JIDDM)". *Neurology*; 29: 893-866, 1979.
- 104.- MEYER J.S.; PORTNOY H.D. "Localized cerebral hypoglycemia simulating stroke". *Neurology*, 8: 601-614; 1958.
- 105.- MILETICH D.J.; IVANKOVIC A.D.; ALBRECHT R.F.; TOYOOKA E.T. "Cerebral hemodynamics following internal maxillary artery ligation in the goat". *J.Appl.Physiol.*, 38: 942-945, 1975.
- 106.- MONTGOMERY B.M.; PINNER C.A. "Transient hypoglycemic hemiplegie". *Arch.Intern. Med.*, 114: 680-684; 1964.

- 107.- NEIL H.A.; GALE E.A.; HAMILTON S.J.; LOPEZ-ESPINOZA I.; KAURA R.; Mc CARTHY S.T. "Cerebral blood flow increases during insulin-induced hypoglycemia in type -I (insulin-dependent) diabetic patients and control subjects". *Diabetología*, 30(5): 305-309, 1987.
- 108.- NELSON E.; RENNELS M.: "innervation of intracranial arteries". *Brain*, 93: 475-490; 1970.
- 109.- NELSON E.; TAKAYANAGI T.; RENNELS M.; KAWAMURA J.: "The innervation of human intracranial arteries: a study by scanning and transmission electron microscopy". *J.Neuropathol. and Exp.Neurol.*, 31: 526-534; 1972.
- 110.- NIELSEN K.C.; OWMAN C.; SPORRONG B.: "Ultrastructure of the autonomic innervation apparatus in the main pial arteries of rats and cats". *Brain Res.*, 27: 25-32; 1971 (b).
- 111.- NILSSON B.; AGARGH C.D.; INGVAR M.; SIESJÖ B.K. "Cerebrovascular response during and following severe insulin-induced hypoglycemia: CO₂-sensivity, autoregulation, and influence of prostaglandin synthesis inhibition". *Acta Physiol.Scand.*, 111: 455-463, 1981.
- 112.- NORBERG K.; SIESJÖ B.K. "Oxidative metabolism of the cerebral cortex of the rat in severe insulin-induced hypoglycemia". *J.Neurochem.*, 26: 345-352; 1976.
- 113.- OTERO-MARTINEZ M.; FREIJANES-PARADA J.; AMADO-SENARIS J.A.; GONZALEZ-MACIAS J. "Crushing of a vertebra due to hypoglycemic convulsions in a diabetic patient". *Rev.Clin.Esp.*, 181(5): 287, 1987.
- 114.- OWEN O.E.; MORGAN A.P.; KEMP H.G.; SULLIVAN J. M.; HERRERA M.G.; CAHILL G.F.Jr. "Brain metabolism during fasting". *J.Clin.Invest.*, 46: 1589-1595; 1967.
- 115.- OWMAN C.; ANDERSON J.; HANKO J.; HARDEBO H.E. "Neurotransmitter amines and peptides in the cerebrovascular bed". En: Mc Kenzie E.T. (Ed.). *Neurotransmitter and the cerebral circulation*. L.E.R.S. Raven Press. New York, 2: 11-38; 1984.

- 116.- PAGE I.H.; OLMSTED F.: "Influence of respiratory gas mixtures on arterial pressure and vascular reactivity in normal and hypertensive dogs". *Circulation*, 3: 801-819; 1975.
- 117.- PELLIGRINO D.; SIESJÖ B.K. "Regulation of extra- and intracellular pH in the brain in severe hypoglycemia". *J.Cereb.Blood Flow Metabol.*, 1: 85-96; 1981 (a).
- 118.- PELLIGRINO D.; ALMQUIST L.-O.; SIESJO B.K. "Effects of insulin-induced hypoglycemia on intracellular pH and impedance in the cerebral cortex of the rat". *Brain Res*, 221: 129-147, 1981. (b).
- 119.- PELLIGRINO D.; YOKOYAMA H.; INGVAR M.; SIESJÖ B.K. "Moderate arterial hypotension reduces cerebral cortical blood flow and enhances cellular release of potassium in severe hypoglycemia". *Acta Physiol.Scand.*, 115:511-513, 1982.
- 120.- PENFIELD W.: "Intracerebral vascular nerves". *Arch.Neurol.Psychiat.* Chicago, 27: 30-44; 1932.
- 121.- PINARD E. "Cholinergic innervation of cerebral blood vessels: functional aspects". In: Seylaz J. and Sercombe R. (Eds.). *Neurotransmitter and cerebrovascular function II*. Elsevier Science Publishers. B.V. (Biomedical Division). Excerpta medica. Amsterdam, 175-191; 1989.
- 122.- PLUM F.; POSNER J.B. "Multifocal, diffuse and metabolic brain diseases causing stupor and coma". In: Plum F. and Posnes J.B. (Eds.). *The diagnosis of stupopr and coma*. F.A. Davies Company. Philadelphia. Edition 3, Chap. 4, pp. 198-221, 1982.
- 123.- PORTNOY H.D. "Transient "ischemic" attacks produced by carotid stenosis and hypoglycemia". *Neurology*; 15: 830-832, 1965.
- 124.- REIMANN C.; LLUCH S.; GLICK G. "Development and evaluation of an experimental model for the study of the cerebral circulation in the unanesthetized goat". *Stroke*, vol.3: 322-328, 1972.
- 125.- RICHARDSON J.C.; CHAMBERS B.R.; HEYWOOD P.M. "Encephalopathies of anoxia and hypoglycemia". *Arch.Neurol.*, 1: 178-190, 1959.

- 126.- ROSENBLUM W.I.; "Contractile effects of norepinephrine on pial arterioles of the mouse". Fed.Proc.; 33:343, 1974.
- 127.- SAKEL M. "Neue Behandlungsart Schizophreniker und verwirrter Erregter". Wien Klin Wochenschr., 46: 1372-1373, 1933.
- 128.- SAKEL M. "The methodological use of hypoglycemia in the treatment of psychoses". Amer. J.Psychiatr., 94: 111-129, 1937.
- 129.- SANDBERG M.; BUTCHER S.P.; HAGBERG H. "Extracellular overflow of neuroactive amino acids during severe insulin-induced hypoglycemia: in vivo dialysis of the rat hippocampus". J.Neurochem., 47:178-184, 1986.
- 130.- SEIBERT D.G. "Reversible decerebrate posturing secondary to hypoglycemia". J.A.M.A., 78: 1036-37; 1985.
- 131.- SERCOMBE R.; AUBINEAU B.; LUSAMYUKU N.A.: "Evidence of angiotensin sensivity in rabbit cerebral arteries in vitro". In:Bes A. and Geraud G. (Eds.), *Circulation cerebrale*. Tolouse, 1979, pp. 59-61.
- 132.- SERVICE F.J.; DALE A.J.D.; ELVEBACK L.R.; JIANG N.S. "Insulinoma: clinical and diagnostic features of 60 consecutive cases". Mayo Clin.Proc., 51: 417-429; 1976.
- 133.- SHIBATA S.; CHENG J.B.; MURAKAMI W. "Reactivity of isolated human cerebral arteries to biogenic amines". Blood Vessels, 14: 356-365; 1977.
- 134.- SIEBER F.E.; DERRER S.A.; SAUDEK C.D.; TRAYSTMAN R.J. "Effect of hypoglycemia on cerebral metabolism and carbon dioxide responsivity". Am.J.Physiol., 256 (Heart Circ.Physiol. 25): H697-H706, 1989.
- 135 - SIESJÖ B.K.; ABDUL-RAHMAN A. "Delayed hypoperfusion in the cerebral cortex of the rat in the recovery period following severe hypoglycemia". Acta Physiol.Scand., 106: 375-376; 1979.
- 136.- SIESJÖ B.K.; INGVAR M.; PELLIGRINO D. "Regional differences in vascular autoregulation in the rat brain in severe insulin-induced hypoglycemia". J.Cereb. Bloos Flow.Merab., 3: 478-485, 1983.

- 137.- SILAS J.H.; GRANT D.S.; MADDOCKS J.L. "Transient hemiparetic attacks due to unrecognized nocturnal hypoglycemia". Br.Med.J. (Clin.Res.). 282: 132-133; 1981.
- 138.- SKINJOJ E.: "The sympathetic nervous system and the regulation of cerebral blood flow in man". Stroke; 3: 711-716, 1972.
- 139.- THURSTON J.H.; HAUHART R.E.; SCHIRO J.A. "Lactate reverses insulin-induced hypoglycemic stupor in suckling-weanling mice: biochemical correlates in blood, liver and brain". J.Cereb. Blood Flow Metab, 3: 498-506, 1983.
- 140.- URQUILLA P.R.; MARCO E.J.; BALFAGON G.; LLUCH S.: "Adrenergic mechanisms in cerebral blood vessels: effect of tyramine on isolated middle cerebral artery of the goat". Stroke; 5: 447-452, 1974.
- 141.- URQUILLA P.R.; MARCO E.J.; LLUCH S. "Pharmacological receptors of the cerebral arteries of the goat". Blood Vessels; 12: 53-67; 1975.
- 142.- VAN HOUTTE P.M. "Effects of anoxia and glucose depletion on isolated veins of the dog". Am.J.Physiol., 203: 1261-1268; 1976.
- 143.- VATNER S.F.; BRAUNWALD E.: "Cardiovascular control mechanisms interactions state: a comparison of the effects of physiological stimuli in the presence and absence of general anesthesia". N.Engl.J.Med., 293: 970-976; 1975.
- 144.- VAZQUEZ CRUZ J. "Glucemia e isquemia cerebral. En: Matias-Guiu J.; Martínez Vila E.; Martí-Vilalta J.L. (eds.). Isquemia Cerebral. Editorial M.C.R., S.A., Barcelona; 283-299; 1990.
- 145.- VINALL P.E.; SIMEONE F.A. "Effects of oxygen and glucose deprivation on vasoactivity in isolated bovine middle cerebral arteries". Stroke, 17: 970-975, 1986.
- 146.- WAHL M.; KUSCHINSKY W.: "Influence of H^+ and K^+ on adenosine-induced dilatation of pial arteries of cats". Blood Vessels, 14: 285-293; 1977.

- 147.- WALLIS W.E.; DONALDSON I.; SCOTT R.; WILSON J.
"Hypoglycemia masquerading as cerebro-vascular disease (hemiplegic hypoglycemia)".(Abs.) Ann.Neurol., 12:74, 1982.
- 148.- WEI E.P.; KONTOS H.A.; PATTERSON J.L.: "Vasoconstrictor effect of angiotensin on pial arteries". Stroke, 9: 487-489, 1978.
- 149.- WESTERBERG E.; WIELOCH T. "Lesions to the corticostriatal pathways ameliorate hypoglycemia-induced arachidonic acid release". J.Neurochem., 47: 1507-1511, 1986.
- 150.- WIELOCH T.; HARRIS R.J.; SYMON L.; SIESJO B.K. "Influence of severe hypoglycemia on brain extracellular calcium and potassium activities, energy and phospholipid metabolism". J.Neurochem.; 43: 160-168, 1984.
- 151.- WIELOCH T.; ENGELSEN B.; WESTWRBERG E.; AUER R.N.:
"Lesions of the glutamatergic corticostriated projections in the rat ameliorate hypoglycemic brain damage in the striatum". Neurosci.Lett.; 58: 25-30, 1985.
- 152.- WIELOCH T.; WESTERBERG E.: "Mechanisms of glutamate neurotoxicity in cerebral ischemia". In: Seylaz J. and Sercombe R. (eds.). Neurotransmission and cerebrovascular function. Vol II. Excerpta Medica. Amsterdam, New Yoek, Oxford. Elsevier Science Publisher B.V., pp 393-409 ; 1989.
- 153.- WILSON D.A.; TRAYSTMAN R.J.; RAPELA C.E.: "Transiet analysis of the canine cerebrovascular response to carbon dioxide". Cic.Res.; 56: 596-605, 1985.
- 154.- WINN H.R.; MORII D.; WEAVER D.; REED J.C.; NGAI A.C.; BERNE R.M. "Changes in brain adenosine concentration during hypoglycemia and posthypoxic hyperemia". J.Cereb.Blood Flow Metab., 3.Suppl. 1: S449-S450; 1983.
- 155.- WOLF A.; HARE C.C.; RIGGS H.W. "Neurological manifestations in two patients with spontaneous hypoglycemia". Bull Neurol. Inst.. NY, 3: 232-251, 1933.